DOI: 10.4274/mjima.2015.14

Mediterr J Infect Microb Antimicrob 2015;4:14

Erişim: <http://dx.doi.org/10.4274/mjima.2015.14>

Diyaresi Olan Febril Nötropenik Hastalarda *Clostridium difficile* Toksin A ve B Pozitifliği Oranları ve Epidemiyolojik Özelliklerinin Değerlendirilmesi

The Evaluation of *Clostridium difficile* Toxin A ve B Positivity Rates and Epidemiological Characteristics in Febrile Neutropenic Patients with Diarrhea

Nur EFE İRİS¹, Aslıhan DEMİREL¹, Safiye KOÇULU¹, Esin ÇEVİK¹, Aylin ORDU², Reyhan DİZ KÜÇÜKKAYA³

¹Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları ve Hematoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Öz

Giriş: *Clostridium difficile* (*C. difficile*), antibiyotik ile ilişkili ishallerin en sık nedenidir. Özellikle immünsüpresyon önemli bir risk faktörü olduğu için diyare yakınması olan febril nötropenik hastalarda toksin A ve B araştırılması önerilir. Çalışmamızda febril nötropenik dönemde ishal gelişen maligniteli hastaların dışkılarında *C. difficile* toksini sıklığını araştırmayı ve toksin pozitif hastaların epidemiyolojik özelliklerini irdelemeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Hastanemize başvuran hematolojik maligniteli ve solid organ tümörlü hastalarda febril nötropenik dönemde diyare gelişen olguların dışkı örnekleri incelendi. *C. difficile* toksin A ve B sıklığı kromatografik immünoassay yöntemi ile *C. difficile* toksin A ve B'nin aynı anda kalitatif olarak belirlenmesini sağlayan ticari kit (MonlabTest, İspanya) ile çalışılmıştır.

Bulgular: Bir Ocak 2012 ile 15 Ağustos 2015 arasındaki dönemde febril nötropenik hastalara ait toplam 197 dışkı örneğinde (%4,6) *C. difficile* toksin A+B pozitifliği saptandı. Ayrıca 14 olguda *Ascaris* yumurtası görüldü (%7) ve bir olgunun da dışkı kültüründe *Salmonella* spp. üredi. Toksin olumluluğu bulunan hastaların altısı kadın, üçü erkek, yaş ortalaması 63,5 olup, yedisi hematolojik maligniteli (%78), ikisi solid organ tümörlü (%22) idi. Tüm olgularda çoklu antibiyotik kullanımı mevcuttu. Yedi olguda kinolon profilaksisi, iki olguda yoğun bakım ünitesinde yatış öyküsü ve tüm olgularda daha önce uzun süreli olarak, ortalama 46 gün hastanede yatış öyküsü mevcuttu.

Sonuç: Diyaresi olan febril nötropenik olgularda *C. difficile* toksin A+B pozitifliği %4,6 oranında saptanmıştır. Kemoterapi almış olmak, kinolon profilaksisi, karbapenem kullanımı, daha önceden uzun süreli hastanede yatış ve çoklu antimikrobiyal kullanımı öyküsü ortak epidemiyolojik özellikler olarak görülmektedir.

Anahtar kelimeler: *Clostridium difficile*, toksin, diyare, *Ascaris*, epidemiyoloji

Abstract

Introduction: *Clostridium difficile* (*C. difficile*) is the most commonly identified causative agent of antibiotic-associated diarrhea. Since immunosuppression is a significant risk factor in febrile neutropenic patients who complain of diarrhea, investigation of toxin A/B is recommended. In this study we aimed at investigating the frequency of *C. difficile* toxin A or B in stools of patients with malignancies who developed diarrhea during the febrile neutropenic period and to analyze the epidemiological characteristics of toxin-positive patients.

Materials and Methods: We analyzed stool samples of patients who were admitted to our hospital. These patients either had hematological malignancies or solid organ tumors and they had developed diarrhea during the febrile neutropenic period. The frequency of *C. difficile* toxin A and B was identified with chromatographic immunoassay method by using a commercial kit (MonlabTest, Spain) that allowed for qualitative identification of *C. difficile* toxins A and B at the same time.

Results: From January 1, 2012 to August 15, 2015, 197 stool samples were analyzed. *C. difficile* toxin A+B positivity was identified in 9 samples (4.6%), *Ascaris* eggs were detected in 14 samples (7%) and *Salmonella* spp. were found in one sample. The mean age of the toxin-positive patients (6 female, 3 male) was 63.5 years; seven had hematological malignancies (78%) and two had solid organ tumors (22%). All the cases had a history of multiple antibiotic treatments. Seven patients had a history of quinolone prophylaxis, two patients had a history of intensive care admission and all the patients had long-term hospitalization with a mean length of 46 days hospitalization.

Conclusion: In febrile neutropenic patients with diarrhea, the rate of *C. difficile* toxin A+B positivity was 4.6%. Having a history of chemotherapy, quinolone prophylaxis, carbapenem use, long-term hospitalization, and use of multiple antimicrobials were found to be common epidemiological characteristics.

Keywords: *Clostridium difficile*, toxin, diarrhea, *Ascaris*, epidemiological properties

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Dr. Nur Efe İris,

Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Tel.: +90 532 652 53 73 E-posta: nurefeiris@yahoo.com

Geliş Tarihi/Received: 04.11.2015 Kabul Tarihi/Accepted: 19.02.2016

Published: 25 Mart 2016

Giriş

Anaerob, sporlu, Gram-olumlu bir bakteri olan *Clostridium difficile* (*C. difficile*) kökenlerinin antibiyotikle ilişkili ishallere neden oldukları ilk kez 1977 yılında gösterilmiştir^[1]. Toksin üreten *C. difficile* kökenleri hafif ishalden, yaşamı tehdit eden kolite kadar değişen ağırlıkta antibiyotikle ilişkili ishal tablolarına yol açmaktadır. Bu enfeksiyonların patogeneğinde de bakterinin ürettiği toksin A (enterotoksin) ve B (sitotoksin) önemli rol oynamaktadır. Bu toksinlerin etki mekanizmaları benzer olup endositozla barsak epitel hücresine girerek hücrede aktin iskeletini etkilemekte ve hücre ölümüne neden olmaktadır. Ayrıca toksinler sitokin salgılanmasına yol açarak enflamatuvar yanıtı arttırmakta ve psödomembran oluşumuna yol açmaktadır^[2]. *C. difficile*, antibiyotik ile ilişkili ishallerin en sık nedenidir, ayrıca immünsüpresif hastalarda antibiyotik kullanımı olmaksızın da diyare nedeni olabilir. *C. difficile* koliti gelişmesi için hastaların enfeksiyona duyarlı olmaları ve *C. difficile* ile kolonize olmaları ya da eksojen yoldan etkeni almaları ve kolon florasının antibiyotik ya da antineoplastiklerle baskılanması gerekmektedir. *C. difficile* ile oluşan kolonizasyon bakterinin çoğalması ve toksin salgılamasına yol açmaktadır. *C. difficile*'ye bağlı ishal gelişiminde en önemli risk faktörleri geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımı, altta yatan hastalığın şiddeti, ileri yaş, nazogastrik sonda uygulaması, enteral beslenme, malignite varlığı, nötropeni, mukozit varlığı, hastanede uzun süre yatış ve yoğun bakım ünitesinde yatma olarak sıralanabilir^[3-5]. Bu çalışmada irdelenen solid organ tümörlü ya da hematolojik maligniteli nötropenik ateş hastaları önemli risk gruplarından birini oluşturmaktadır. Bu nedenle febril nötropenik hastalarda ishal geliştiğinde diğer ishal etkenleri ile birlikte ön planda *C. difficile*'nin düşünülmesi gerektiği ve toksin A ve B araştırılarak gereğinde tedavi verilmesi febril nötropeni rehberlerinde önerilmektedir^[6].

C. difficile enfeksiyonu tanısı amacıyla antijen aranması, kültür, sitotoksisite testleri ve polimeraz zincir reaksiyonu kullanılmaktadır. Kesin tanı, dışkıdan *C. difficile*'nin üretilmesi ve hücre kültüründe sitopatik etkiyi saptayarak toksin yapımının gösterilmesi ile konur^[7]. Ancak rutinde bu her zaman mümkün olmadığından toksin saptamaya yönelik testlerle daha hızlı tanı konabilmektedir, bu amaçla ELİSA (enzyme-linked immunosorbent assay) ve lateks aglütinasyon testleri rutin pratikte sıklıkla kullanılmaktadır.

Biz de çalışmamızda kemoterapi sonrası nötropeniye giren ve ishal gelişen hematolojik maligniteli ve solid organ tümörlü hastalarımızda toksin A ve B pozitifliği oranlarının kılavuzların dikkat çektiği gibi yüksek olup olmadığını araştırmayı ve *C. difficile* tanısı öncesi öngörü sağlayabilmek için pozitiflik saptanan hastaların ortak özelliklerini, febril nötropeni, malignite ve kemoterapiye ilaveten hangi riskli özellikleri taşıdıklarını araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada 1 Ocak 2012-15 Ağustos 2015 arasındaki dönemde İstanbul Bilim Üniversitesi, Avrupa Florence Nightingale Hastanesi Araştırma ve Uygulama Merkezi, Şişhane Kampüsü Hastanesi'nde yatırılarak ya da poliklinikten izlenen hematolojik maligniteli ve solid organ tümörlü hastalarda febril nötropenik dönemde diyare gelişen olgular çalışmaya alındı. Hastanemizde tüm hastalar tek kişilik odalarda interne edilmektedir. Nötropenik ateş, nötrofil sayısının $<500 /\text{mm}^3$ olması, ateş, vücut sıcaklığının bir saat boyunca 38°C olması veya bir defada $38,3^\circ\text{C}$ ölçülmesi olarak tanımlandı. Günde üç kezden fazla sulu dışkılaması olan hastalar ishali olarak kabul edildi. İshali hastaların dışkı örnekleri laboratuvara ulaştırıldıktan sonra makroskopik ve mikroskopik incelemeleri yapılmıştır. Makroskopik incelemede dışkının kıvamına, kan ve mukus olup olmadığına bakılmıştır. Sadece sulu dışkı örnekleri çalışmaya alınmıştır. Dışkı örnekleri lökosit, eritrosit ve parazit varlığı açısından lugol inceleme ile ışık mikroskopunda değerlendirilmiştir. Parazitolojik inceleme konsantrasyon ve çöktürme yöntemi ile yapılmıştır (Mini Parasep SF, Apacor, İngiltere). Daha sonra dışkı kültürleri ile patojen bakteri varlığı araştırılmıştır. Kültür için örnekler eozin-metilen mavisi (EMB), Salmonella-Shigella agara ekilmiştir. *C. difficile* toksin A/B hemen çalışılmayacaksa örnekler testten önce 24 saat 4°C 'de buzdolabında saklanmıştır. Daha uzun süre saklanması gerekenler -2°C 'de derin dondurucuda bekletilmiştir. Dışkı örneklerinde *C. difficile* toksin A ve B sıklığı kromatografik immünoassay yöntemi ile *C. difficile* toksin A ve B'nin aynı anda kalitatif olarak belirlenmesini sağlayan ticari kit (MonlabTest, İspanya) ile üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışılmıştır.

Testin Prensipli

İnsan dışkı örneklerinde toksin A ve B'nin saptanmasını sağlayan kalitatif yatay akış (İmmüno lateral) immünoassay testidir. Bu kitte strip üzerinde test A ve test B membranları vardır. Test A'nın membranı toksin A'ya karşı geliştirilmiş monoklonal antikorlarla, test B'nin membranı da toksin B'ye karşı geliştirilmiş monoklonal antikorlarla kaplıdır. Test sırasında örnek karışım hazırlanır, eküvyon ile alınan dışkı örneği (yaklaşık 125 mg) 1 mL buffer içeren test tüpüne konularak karıştırılır ve hazırlanan karışımdan 4 damla alınarak test kiti üzerine damlatılır. Örnekte bulunan toksin A anti-toksin A antikorları ile, toksin B de antitoksin B antikorları ile reaksiyona girer ve karışım kapiller hareketle yukarı doğru çıkarak olumlu sonuç durumunda membranda bulunan spesifik antikor, karışımdaki konjugatla reaksiyona girerek renkli çizgiler oluşturur. Yani test monoklonal antikorlarla kaplı lateks partiküllerine toksinin tutunması esasına dayanır, 10 dakika içinde sonuçlar okunur. Olumlu sonuçlarda ilgili alanlarda kırmızı renkli çizgiler oluşur. Hastaların epidemiyolojik verilerinin değerlendirilmesi amacıyla çalışma sonrasında hastaların yaşları, cinsiyetleri, malign

hastalık tanıları, kullandıkları antibiyotikler, kinolon profilaksisi alıp almadıkları, bu yatışlarında ve son bir yılda hastanede yatış süreleri, yoğun bakıma yatış öyküleri, mukozit veya graft versus host hastalığı (GVHH) varlığı, enteral beslenme, nazogastrik sonda varlığı, invazif aspergilloz ve antifungal ilaç kullanım durumları belirlenip kaydedilmiştir.

Bulgular

Bir Ocak 2012 ile 15 Ağustos 2015 arasındaki dönemde ishali olan febril nötropenik hastalara ait toplam 197 dışkı örneğinin dokuzunda (%4,6) *C. difficile* toksin A+B pozitifliği saptandı. Toksin pozitif hastaların hepsi antibiyoterapi amaçlı olarak interne edilmiş hastalardı, poliklinik hastalarında toksin pozitifliğine rastlanmadı. Toksin pozitif dışkı örneklerinin hiçbirinde *Salmonella* spp. ya da *Shigella* spp. üremedi, mikroskopik incelemelerinde de parazit saptanmamıştır. Toksin saptanmayan olguların parazitolojik incelemesinde 14 olguda *Ascaris* yumurtası görülmüş (14/197, %7) bir olgunun dışkı kültüründe de *Salmonella* spp. üremiştir (1/197, %0,5). Toksin pozitif olguların tümünde dışkıda lökosit görülmüş olup sayıları 4 ile 10 arası değişmektedir, aynı şekilde tüm olgularda dışkıda eritrosit saptanmış olup 2 ile 10 arası değişmektedir. Toksin saptanan olguların yedisi hematolojik maligniteli (%78), ikisi de solid organ tümörlü hastalardı (%22). Toksin pozitif olguların tümü hastanede yatırılarak tedavi edilen febril nötropenik hastalardan oluşuyordu, hastalarımızın tümünde hastaneye yatıştan 3 ile 14 gün sonra ishal gelişmişti. Toksin pozitif bulunan hastaların hepsi kemoterapi rejimlerini minimum iki hafta önce almışlardı. Toksin pozitifliği bulunan hastaların altısı kadın, üçü erkek, yaş ortalaması 63,5, ikisi lenfoma, ikisi akut miyeloid lösemi, biri miyelodisplastik sendrom, biri kolanjiokarsinom, biri kronik lenfositik lösemi, biri akut lenfoblastik lösemi, birisi de pankreas kanseri tanılı olup olguların hepsi kemoterapi sonrası gelişen febril nötropeni tanısıyla interne edilip parenteral karbapenem başlanmış olgulardı. Olguların beşinde glikopeptid kullanımı da mevcut olup, hepsinde çoklu antibiyotik kullanımı mevcuttu. Yedi olgunun kinolon profilaksisi aldığı öğrenildi. Bu hastaların ikisi iki hafta önce, diğerleri ise son altı ay içinde kinolon profilaksisi almışlardı. İki olgunun yoğun bakım ünitesinde yatış öyküsü vardı ama bu yatışları birinde son iki ayda iken diğer hastada bir yıl önceydi. Ek olarak tüm olguların daha önce uzun süreli olarak, ortalama 46 gün (son bir yıl içinde toplam yatış süreleri), hastanede yatış öyküleri mevcuttu (Tablo 1). Toksin pozitifliği saptanan olgular oral metronidazol 4x500 mg ile tedavi edildi, olguların hepsi bu tedaviye klinik yanıt verdi.

Tartışma

Son yıllarda *C. difficile* enfeksiyonlarının sıklığının, morbiditesinin ve mortalitesinin artması dolayısıyla giderek önem kazandıği görülmektedir[8]. İmmünsüpresyon da önemli risk faktörlerinden

biridir. Nozokomiyal ishalde en sık karşılaşılan mikroorganizma da *C. difficile*'dir[8]. *C. difficile* patogeneğinde ilk şart antibiyotikler ya da antineoplastik ilaçlarla kolon florasının baskılanmasıdır. Bunu takiben *C. difficile* kolonize olur, çoğalır ve toksin salgılayarak diyareye neden olur. Ayrıca ileri yaş (65 ve üzeri), hastanede yatış süresinin uzunluğu, üremi, nazogastrik sonda veya endotrakeal tüp varlığı, gastrointestinal sisteme operasyon, altta yatan hastalığın şiddeti, mide asiditesini azaltan ilaçlar da diğer risk faktörleri arasındadır[3,4]. Rehberler febril nötropenik hastaların ishallerinde hızlıca toksin A ve B araştırılmasını ve pozitiflik saptandığında ilk seçenek olarak metronidazol ile tedavi edilmesini önermektedir[6].

C. difficile tanısında çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Mikroskopik incelemede dışkıda lökosit, eritrosit görülüp Gram boyamada da baskın olarak subterminal sporlu Gram-olumlu çomaklar saptanabilir, ancak tanılabilirliği yoktur. Floresan mikroskopu ile *C. difficile* antijenlerine karşı işaretlenmiş antikorlar kullanılabilir, ancak özgüllüğü düşüktür. Selektif anaerob kültür sikloserin sefoksitin fruktoz agar besiyerinde tipik kokulu sarı koloniler görülür, kültür en duyarlı yöntemdir, ancak toksin üreten suşlara özgül olmayıp rutin uygulaması kolay değildir ve pahalıdır, ancak tiplendirme avantajı vardır ve salgınlarda epidemiyolojik araştırmaların temelini oluşturur. *C. difficile* tanısında altın standart hücre kültüründe toksin tayinidir, duyarlılığı ve özgüllüğü yüksektir, ancak test 3-9 gün sürer. EİA ile *C. difficile* glutamat dehidrogenaz saptanmasının duyarlılığı %85-95, özgüllüğü %89-99'dur. Test olumsuzsa *C. difficile* yoktur, olumluysa hücre kültüründe toksin konfirmasyonu ya da polimeraz zincir reaksiyonu gereklidir. EİA ile *C. difficile* toksin A ve B saptanması ise en sık kullanılan tanı metodu olup, duyarlılığı %75, özgüllüğü %99'dur, ucuz ve pratiktir, 1 saat içinde sonuç verir[9]. Ayrıca çalışmamızda kullandığımız metod olan immünokromatografik yöntemlerle toksin A+B bakılabilir. Monoklonal antikorlarla kaplı lateks partiküllerine toksinin tutunması esasına dayanan bu test pratik olması dolayısıyla rutin uygulamada sık olarak kullanılır, duyarlılığı %89, özgüllüğü %89 olarak bildirilmiştir[10]. Test negatif bulunduğunda eğer hastanın kliniği *C. difficile* kolitini yüksek oranda düşündürüyorsa daha duyarlı diğer testlere de başvurulması önerilmektedir[10]. ABD'de 2008 yılında laboratuvarlarda kullanılan testlerin değerlendirildiği bir araştırmada %43 oranında EİA, %40 oranında da hızlı immünokromatografik yöntemin kullanıldığı bildirilmiştir[11].

Çalışmamızda ishal yakınması olan febril nötropenik hasta grubunda *C. difficile* sıklığı immünokromatografik yöntemle %4,6 olarak saptandı. Lale ve ark.'nın[12] çalışmasında ishali hastalarda *C. difficile* sıklığı ELİSA yöntemi ile %24, hematoloji-onkoloji ve kemik iliği nakil ünitelerinde %38 bulunmuştur. Deniz ve ark.[13] Marmara Üniversitesi Hastanesi'nde yatan, ishali olan 633 hastanın dışkı örneklerinde EİA ile toksin pozitiflik oranını %4,7 olarak bildirmişlerdir. Aygün ve ark.[14] antibiyotik

Tablo 1. Hastaların demografik özellikleri

Olgu	Yaş/cinsiyet	Tanı	Hastanede yatış süresi	Mukozit	GVHH	WTF	Enteral beslenme	Glikopeptid kullanımı	IA ve Amf B kullanımı	Kinolon prof.	Karbapenem kullanımı	Yoğun bakımda yatış	Kemoterapi
1	25/K	AML	33 gün					+		+	+	+	+
2	54/K	Kolanjio CA	15 gün				+	+			+		+
3	62/E	AML	74 gün	+	+			+	+	+	+	+	+
4	84/K	Lenfoma	85 gün							+	+		+
5	78/K	Lenfoma	15 gün			+	+	+		+	+	+	+
6	90/E	MDS	90 gün	+			+			+	+		+
7	43/E	KLL	60 gün					+		+	+		+
8	65/K	Pankreas CA	7 gün				+				+		+
9	71/K	ALL	39 gün					+		+	+		+

K: Kadın, E: Erkek, AML: Akut miyeloid lösemi, MDS: Miyelodisplastik sendrom, KLL: Kronik lenfositik lösemi, GVHH: Graft versus host hastalığı, YND: Yeni nesil dizileme

ile ilişkili ishal olgularında *C. difficile* toksin A ve B pozitifliğini %4,3 olarak bildirmişlerdir. Büyükbaba Boral *C. difficile* ön tanısıyla laboratuvara gönderilen örneklerde sadece toksin A varlığını belirleyen kit ile %4,7 olarak belirlerken daha sonraki yıllarda gönderilen 400 dışkı örneğinde toksin A/B varlığını %12 olarak belirlemiştir^[15]. Bu durum her iki toksini de araştıran kitlerle duyarlılığın daha da arttığını göstermektedir. Çeşitli merkezlerden bildirilen oranlar arasındaki farklılıklar, çalışmada kullanılan yöntem ve kitlerle, örneklerin saklanması ve hastaların hastanede yatış sürelerinin, antibiyotik kullanım politikalarının ve hastanelerin enfeksiyon kontrol önlemlerinin farklılığından kaynaklanıyor olabilir.

Toksin araştırılmasında hızlı sonuç alınması ve uygulama kolaylığı nedeniyle toksin A ve B'yi birlikte saptayan ELISA yöntemi kullanılmaktadır^[16]. Sadece toksin A'yı araştıran kitlerle bazı olgular gözden kaçabilmektedir, bu yüzden ikisini birden saptayan kitler daha güvenilirdir. Biz de çalışmamızda *C. difficile* toksin A ve B'nin aynı anda kalitatif olarak belirlenmesini sağlayan ticari kiti (MonlabTest, İspanya) kullandık. Ancak çalışmamızda kullandığımız yöntemin duyarlılığı diğer yöntemlere göre düşük olduğundan oranlarımız nispeten düşük çıkmış olabilir. Ayrıca hafif ve erken olgularda toksin saptanmıyor olabilir. Olgularımızın çoğu da mevcut risk faktörleri ve hassas immün durumları nedeniyle yakın takipte olduklarından erken dönemde örnek alınmasına bağlı olarak toksin sonuçları negatif sonuçlanmış olabilir. Vanpoucke ve ark.^[10] ticari ELISA kitlerini kültür ve kromatografik yöntem ile karşılaştırmışlar ve kromatografik yöntemin ELISA'dan daha duyarlı olduğunu saptamışlardır. Olguların klinik bulgularıyla birlikte değerlendirilmesinin ve farklı yöntemlerle çalışılmasının gerektiğini vurgulamışlardır. Yapılan çalışmalarda antibiyotik kullanımı *C. difficile* ilişkili ishal için önemli bir risk faktörü olup beta-laktam grubu antibiyotik kullanımının (penisilin, sefalosporin, imipenem, meropenem) daha ön planda olduğu görülmektedir^[13,17,18]. Bizim çalışmamızda da toksin pozitif olguların hepsi karbapenem, çoğu glikopeptid grubu antibiyotik ve hepsi çoklu antibiyotik kullanmaktaydı. *C. difficile*'ye bağlı ishalde en önemli risk faktörlerinden birisi de hastanede yatış süresidir. Bu sebeple *C. difficile* ishalinin hastane enfeksiyonu olduğu düşünülmektedir. Bir çalışmada predispozan faktör tanımlamayan 37 kişinin %10,8'inin dışkısından hastaneye yattıktan 30 gün sonra *C. difficile* izole edilmiştir^[5]. Ayrıca enfekte hasta ile aynı odanın paylaşılması da önemli bir risk faktörüdür^[19,20]. Çalışmamıza alınan hastaların hastanede yatış süreleri uzun olup (7-90 gün) ortalama 46 gün olarak belirlendi.

C. difficile enfeksiyonlarının gelişmesinde altta yatan ciddi bir hastalığın varlığı, hastaların yaşlı olması, kanser varlığı, kemoterapi alıyor olmak diğer önemli risk faktörlerindendir^[21]. Çalışmamızda toksin pozitifliği saptanan olgular risk faktörleri

açısından değerlendirildiğinde hastalarımızın ikisi hariç diğerlerinin yaşlı olması, hepsinin kemoterapi almış olması ve sonrasında nötropeni gelişmesi, febril nötropeni tanısıyla interne edilip karbapenem başlanmış olmaları ortak özellikleriydi. Olguların beşinde glikopeptid kullanımı da mevcut olup hepsi çoklu antibiyotik kullanmaktaydı. Yedi olgunun kinolon profilaksisi aldığı öğrenildi. İki olgunun yoğun bakım ünitesinde yatış öyküsü ve tüm olguların daha önce uzun süreli olarak, ortalama 46 gün, hastanede yatış öyküleri mevcuttu. Ayrıca enteral beslenme toksin pozitif hastaların yaklaşık yarısında mevcuttu. Başlıca diğer risk faktörlerinden olan mukozit, GVHH varlığı, nazogastrik sonda varlığı ve invazif aspergillozis varlığı az sayıda toksin pozitif hastada bulunuyordu.

Çalışmamızdaki toksin pozitif olguların sayısının azlığı kolaylaştırıcı faktörlerin değerlendirilmesinde bir sınırlandırma oluşturmaktadır, olgu sayısı arttığında daha sağlıklı bir istatistiki değerlendirmeye olanak sağlayacaktır.

Sonuç

Febril nötropenik hastalarımızda ishal etiyolojisi araştırıldığında sadece bir hastada 1/197 (%0,5) *Salmonella* spp. üremiş, parazitolojik incelemede %7 (14/197) oranında *Ascaris* görülmüş ve %4,6 (9/197) oranında *C. difficile* toksin A+B olumluluğu saptanmıştır. Toksin pozitif olguların epidemiyolojik özellikleri değerlendirildiğinde malignite ve kemoterapi dolayısıyla immünsüpresif olmalarının yanı sıra yaşlı olmaları, hastanede uzun süreli yatışları, çoklu antibiyotik, özellikle de beta laktam grubundan karbapenem kullanıyor olmaları da ortak epidemiyolojik özellikleri olarak görülmektedir.

Etik

Etik Kurul Onayı: Hastanemizde retrospektif çalışmalarda etik kurul onayı istenmemektedir.

Yazarlık Katkıları

Konsept: Nur Efe İris, Aslıhan Demirel, Dizayn: Nur Efe İris, Reyhan Diz Küçükkaya, Veri toplama ve işleme: Nur Efe İris, Safiye Koçulu, Esin Çevik, Analiz veya Yorumlama: Nur Efe İris, Aylın Ordu, Literatür tarama: Nur Efe İris, Yazan: Nur Efe İris.

Çıkar çatışması: Yazarlar bu makale ile ilgili olarak herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

Finansal destek: Çalışmamız için hiçbir kurum ya da kişiden finansal destek alınmamıştır.

Kaynaklar

1. Bartlett JG. Historical perspectives on studies of *Clostridium difficile* and *Clostridium difficile* infection. Clin Infect Dis. 2008;46 (suppl 1) p.4-11.
2. Poxton IR, Mc Coubrey J, Blair G. The pathogenicity of *Clostridium difficile*. Clin Microbiol Infect. 2001;7:421-7.
3. Bignardi GE. Risk Factors of *Clostridium difficile* infections. J Hospital Infect. 1998;40:1-15.
4. Barbut F, Petit JC. Epidemiology of *C. difficile* associated infections. Clin Microbiol Infect. 2001;7:405-10.
5. Tunçcan ÖG, Ulutan F, Karakuş R. Antibiyotiğe bağlı ishal gelişen nötropenik ve nötropenik olmayan hastalarda *C. difficile* toksin sıklığı ve risk faktörlerinin analizi. Mikrobiyol Bul. 2008;42:573-83.
6. Freifeld GA, Bow JE, Sephowitz KA, Boeckh MJ, Ito IJ, Mullen CA, Road I, Rolston KV, Young JA, Wingard JR. Clinical Practice Guideline for the Use of Antimicrobial Agents in Neutropenic Patients with Cancer: 2010 Update by the Infectious Diseases Society of America, p.56-93.
7. Kostul H, Delialioğlu N, Horasan EŞ, Emekdaş G, Öztürk C, Kuyucu N. Hastanede yatan hastaların dışkı örneklerinde *Clostridium difficile* toksin araştırılması ve risk faktörlerinin incelenmesi. Turk Hij Den Biyol Derg. 2015;72:183-90.
8. Carter GP, Road JI, Lyras D. The role of toxin A and toxin B in *Clostridium difficile* associated disease: past and present perspectives. Gut Microbes. 2010;1:58-64.
9. Tunçcan ÖG. *Clostridium difficile* infeksiyonu: Epidemiyoloji, Tanı ve Tedavi. KLİMİK 2013, XVI. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, kongre kitabı, s:102-103.
10. Vanpoucke H, De Baere T, Claeys G, Vaneechoutte M, Verschraegen G. Evaluation of six commercial assays for the rapid detection of *Clostridium difficile* toxin and/or antigen in stool specimens. Clin Microbiol Infect. 2001;7:55-64.
11. Schmidt ML, Gilligan PH. *Clostridium difficile* testing algorithms: what is practical and feasible? Anaerob. 2009;15:270-73.
12. Lale Z, Doğruman AL, Fidan I, Adıyaman G, Yeşilyurt E, Özkan S, Çağlar K. İshalli hastaların dışkı örneklerinde *Clostridium difficile* toksin A ve B sıklığının araştırılması. ANKEM Derg. 2013;27:55-9.
13. Deniz U, Ülger N, Aksu B, Karavuş M, Söyletir G. Marmara Üniversitesi Hastanesi'nde yatan ishalleri hastalardan izole edilen *Clostridium difficile* kökenlerinde toksin genlerinin araştırılması. Mikrobiyol Bul. 2011;45:1-10.
14. Aygün G, Aslan M, Yaşar H, Altaş K. Antibiyotik ile ilişkili ishal olgularında *Clostridium difficile* toksin A+B araştırılması. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 2003;33:39-41.
15. Büyükbaba Boral Ö. *Clostridium difficile* infeksiyonu ön tanılı hastaların dışkı örneklerinde toksin A ve B'nin belirlenme sıklığı. Turk Mikrobiyol Cem Derg. 2002;32:220-4.
16. Shin BM, Kuak EY, Lee EJ, Songer JG. Algorithm combining toxin immunoassays and stool culture for diagnosis of *Clostridium difficile* infection. J Clin Microbiol. 2009;47:2952-6.
17. Ercis S, Ergin A, Haşcelik G. Six years evaluation of *Clostridium difficile* associated diarrhea. Mikrobiyol Bul. 2004;38:45-50.
18. Altındış M, Usluer S, Çiftçi H, Tunç N, Çetinkaya Z, Aktepe OC. Investigation of the presence of *Clostridium difficile* in antibiotic associated diarrhea patients by culture and toxin detection methods. Mikrobiyol Bul. 2007;41:29-37.
19. Beşirbellioğlu AB, Görenek L, Dizer U, Hacibektaşoğlu A. GATA Eğitim Hastanesi'nde nozokomiyal *C. difficile* sıklığı. Hastane Enfeksiyonu Derg. 1997;1:158-62.
20. Mc Farland LV, Mulligan ME, Kivak RY, Stamm WE. Nosocomial acquisition of *C. difficile* infection. N Engl J Med. 1989; 320:204-10.
21. Thielman MM. Antibiotic associated colitis. pp: 1249-63. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds) Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Inf Dis, 2005, 6th ed. Elsevier Churchill Livingstone, Philadelphia.