

Zakażenie *Clostridioides difficile* jako zoonoza i antroponoza

Zdzisław Gliński, Andrzej Żmuda

z Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie

Właściwościami zoonotycznymi cechuje się 61,6% patogenów człowieka, ponieważ są przenoszony z różnych gatunków zwierząt na człowieka. Jednak występują także sytuacje odwrotne, gdy człowiek jest źródłem zakażenia dla zwierząt towarzyszących, gospodarskich, a nawet dzikich (tab. 1; 1). Choroby te, określane jako rewersyjne zoonozy (antroponozy), nabierają na świecie coraz większego znaczenia, zwłaszcza w przypadku zwierząt towarzyszących człowiekowi, ponieważ istnieje możliwość transferu patogenu z zakażonych ludzi na zwierzęta. Najlepszym dowodem istnienia takich sytuacji są zakażenia gronkowcem złocistym opornym na metycylinę (MRSA), obecnie uznane za zagrażające zarówno człowiekowi, jak i zwierzętom (2) lub przez *Escherichia coli* O25:H4-ST131 CTX-M-15 z transmisją na psy i konie oraz *vice versa* (3). Niektóre z patogenów wywołujących rewersyjne zoonozy odpowiadają za pojawienie się nowo zagrażających chorób. Są one efektem zmian patogenu na skutek mutacji, rekombinacji lub dryftu genetycznego, zmian w organizmie gospodarza, np. immunosupresji, zmian w wielkości, zachowaniu i mobilności populacji zwierząt i ludzi oraz czynników ekologicznych, np. zmian w rolnictwie, hodowli zwierząt, urbanizacji (4). Do nowo zagrażających chorób należy zakażenie wywołane u człowieka przez laseczkę *Clostridioides* (dawniej *Clostridium*) *difficile* (5, 6). Infekcja tym drobnoustrojem jest też uznana za zagrożenie dla zdrowia psów, kotów, koni i świń (7).

Clostridioides difficile infection – zoonosis and reverse zoonosis

Gliński Z., Żmuda A., Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences in Lublin

Clostridioides (*Clostridium*) *difficile* is the most common cause of antibiotic and hospital associated diarrhea and severe colitis in humans and also in dogs, cats, horses, cattle and pigs. It appears to be an emerging zoonotic and reversely zoonotic pathogen. The primary virulence factors of *C. difficile* are the two major toxins, toxin A (TcdA) and toxin B (TcdB). Some strains of *C. difficile* may also produce an ADP-ribosylating binary toxin (CDT). Dogs and cats in animal shelters are a reservoir of human pathogenic *C. difficile*. Small animals can potentially act as vectors for the transmission of the organism to humans via direct contact or indirect transmission through raw food, or through contaminated water. Inversely, toxin producing ribotypes 014, 027 and 078 of *C. difficile* can be transmitted from humans to animals. Our article aims at the presentation of this emerging animal associated disease, its pathogenesis, and methods of control.

Keywords: *Clostridioides difficile*, zoonosis, antroponosis.

Człowiek i zwierzęta zakażają się najczęściej przez kontakt z kałem chorych ludzi (droga fekalno-oralna), psy także podczas rycia w ziemi zanieczyszczonej endosporami zarazka, czasem podczas kontaktu z właścicielami chorymi na rzekomobłoniaste zapalenie okrężnicy. Ludzie ze względu na dużą liczbę wypróżnień nie zawsze przestrzegają higieny osobistej. Źródłem zakażenia są też bezobjawowi nosiciele

Tabela 1. Wybrane rewersyjne zoonozy (antroponozy)

PATOGEN	CHOROBA		WRAŻLIWE ZWIERZĘ
	CZŁOWIEK	ZWIERZĘTA	
Mumps rubulavirus	nagminne zapalenie przyusznicy (świnka)	zapalenie przyusznicy	pies
Hepatitis virus C, E (Hepeviridae)	wirusowe zapalenie wątroby	zapalenie gruczołu mlekowego, owrodzenie strzyków	bydło
Influenza virus H1N1	grypa	grypa	kot
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	blonica	zapalenie gruczołu mlekowego, owrodzenia	bydło
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA	czyracyca	zapalenie gruczołu mlekowego, ropnie skóry i tkanek miękkich	bydło, pies
<i>Streptococcus pyogenes</i>	zapalenie gardła, zapalenie płuc, ropowica	zapalenie płuc, ropnie skóry	pies
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	gruźlica	gruźlica	bydło, pies
<i>Clostridioides difficile</i> (<i>Clostridium difficile</i>)	rzekomobłoniaste zapalenie okrężnicy	zapalenie okrężnicy (CDAD)	pies, kot, koń, bydło, świnia
<i>Escherichia coli</i> O25:H4-	kolibakterioza	kolibakterioza	pies, koń
<i>Ascaris lumbricoides</i>	glistnica	glistnica	pies
<i>Giardia duodenalis</i>	giardioza	giardioza	przeżuwacze
<i>Taenia saginata</i>	tasiemczyca	cysticerkoza	bydło
<i>Cryptosporidium parvum</i>	kryptosporidioza	kryptosporidioza	bydło, owca, koza
<i>Microsporium, Trichophyton</i>	grzybica skórna	grzybica	pies, kot

zarazka. U ludzi częste są zakażenia wewnątrzszpitalne. U psów i kotów do zakażeń dochodzi w schroniskach, a u koni w stadninach. W szpitalach w Europie liczba nowych przypadków zakażeń *C. difficile* wynosi średnio 4,1/10 tys. pacjentów/dzień (8). Coraz więcej uwagi zwraca się na produkty spożywcze zwierzęcego pochodzenia niepoddane termicznej obróbce i wodę, jako źródło zakażenia dla człowieka i zwierząt (9, 10, 11).

Właściwości *C. difficile*

Clostridioides difficile (12) wyisobniono po raz pierwszy w 1935 r. z kału i smółki zdrowych noworodków, a następnie od chorych ludzi i zwierząt (13), ale dopiero w 1994 r. udowodniono, że jest on u człowieka czynnikiem etiologicznym rzekomobłoniastego zapalenia okrężnicy i biegunek związanych z długotrwałym leczeniem antybiotykami o szerokim spektrum działania (14). Okazało się, że wywołuje on też choroby przewodu pokarmowego psów, kotów, królików, świń, bydła, owiec, kóz, koni i małą *C. difficile* jest bezwzględnie beztlenową bakterią (0,5–1,9 x 3,0–16 µm), która występuje w formie wegetatywnej Gram-dodatnich laseczek tworzących łańcuszki złożone z 2–6 komórek oraz wytwarza endospory. Endospory umożliwiają przetrwanie zarazka w środowisku zewnętrznym oraz odgrywają rolę w transmisji zakażenia. Są odporne na działanie wysokiej temperatury, kwasów, wytrzymują ogrzewanie do 100°C przez 1–2 godz., giną po 10 min pod wpływem wapna chlorowanego i po 24 godz. pod wpływem 3% formaliny (15).

C. difficile często występuje w przewodzie pokarmowym zdrowych ludzi, psów, kotów, świń, koni, bydła, owiec, kóz, królików, chomików, małą nieczłokokształtnych, a także w glebie, wodzie i roślinach (14, 16). Toksynotwórcze genotypy tego zarazka wywołują choroby u człowieka i zwierząt (1). Ze względu na „oporność kolonizacyjną” (colonization resistance), która istnieje dzięki mikrobiomowi i kontroluje stabilność mikrobioty przewodu pokarmowego i nadmierne namnażanie się szkodliwych dla organizmu bakterii, kiełkowanie i namnażanie się toksycznych genotypów *C. difficile* jest ograniczone. W okrężnicy człowieka tę rolę kontrolną spełniają dwie główne grupy bakterii Firmicutes i Bacteroidetes, które stanowią 90% wszystkich mikrobiota okrężnicy, zaś resztę stanowią Actinobacteria i Proteobacteria (17). Przez produkowane bakteriocyny, produkty rozkładu składników pożywienia o działaniu przeciwdrobnoustrojowym oraz rywalizację o pokarm i miejsce w jelicie, a także stymulację odporności miejscowej, uniemożliwiają one kolonizację okrężnicy przez bakterie obecne w środowisku, w pożywieniu i wodzie oraz hamują nadmierny wzrost szkodliwych dla organizmu składowych mikrobiomu (18, 19). W mikrobiomie okrężnicy zdrowych psów dominują trzy rzędy bakterii: Fusobacteria, Firmicutes i Bacteroides (20). Najważniejsza rola mikrobiomu okrężnicy psów polega na ograniczeniu wzrostu drobnoustrojów chorobotwórczych i produkowaniu krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych wykorzystywanych przez kolonocyty.

Szczepy *C. difficile* produkują enterotoksynę Tcd A (308 kDa) lub cytotoksynę Tcd B (209 kDa; 21)

albo obydwie toksyny będące głównymi czynnikami zjadliwości oraz enzymy hydrolityczne (22). Toksyny inaktywują kluczowe regulatory cytoszkieletu (Rho-GTPazy, RhoA, Rac i Cdc42) enterocytów na drodze glikozylacji (23). Natomiast hiperwirulentny genotyp *C. difficile* NA P1/BI/027, obecny także w Polsce, dodatkowo produkuje toksynę binarną CDT (24). Toksyna binarna współdziała z TcdA i TcdB w depolimeryzacji cytoszkieletu i przyczynia się do uwolnienia zawartości cytozolu. Ten materiał, tworząc gęstą siatkę na powierzchni komórek nabłonka jelit, ułatwia adhezję i manażanie się *C. difficile* w jelicie (25). Zmiany w jelitach inicjuje TCdA, dla której receptory występują w blaszce właściwej nabłonka połączeń międzykomórkowych, co ułatwia niszczące działanie TcdB. Po internalizacji na drodze endocytozy toksyna niszczy cytoszkielet i wywołują apoptozę komórek nabłonka jelit, indukują produkcję cytokin prozapalnych IL-1, IL-23, rekrutują makrofagi, stymulują mastocyty, indukują czynnik wzrostu śródbłonka naczyniowego A (VEGF-A) i przy współdziałaniu enzymów hydrolitycznych wywołują zapalenie okrężnicy i biegunek. Zwiększenie przepuszczalności naczyń włosowatych ściany okrężnicy pod wpływem toksyn i wytrącanie się włókienka powodują powstanie błon rzekomych na nabłonku jelita. Toksyny są też odpowiedzialne za zaburzenie ogólne organizmu: upośledzenie krążenia, zespół ostrej niewydolności oddechowej (26), zaburzenie czynności nerek (27) i układu nerwowego (28).

Czynniki ryzyka i patogeneza chorób wywołanych przez *C. difficile*

W patogenezie zakażenia laseczką *C. difficile* ludzi i zwierząt istotne znaczenie odgrywają dwie grupy czynników ryzyka: jedną są czynniki zaburzające mikrobiom okrężnicy, drugą czynniki obniżające mechanizmy odporności naturalnej i nabytej organizmu. Wśród pierwszego rodzaju czynników ryzyka najważniejsza jest terapia antybiotykami o szerokim spektrum działania trwająca 5–15 dni (29). W zdrowym organizmie najważniejszą rolę mikrobiomu okrężnicy jest ograniczenie wzrostu drobnoustrojów chorobotwórczych, produkcja kwasów tłuszczowych o krótkim łańcuchu wykorzystywanych przez kolonocyty oraz metabolizowanie soli kwasów tłuszczowych, co hamuje kiełkowanie endospor *C. difficile*. Pozbawione tlenu środowisko okrężnicy, obecność glicyny i soli żółciowych ułatwia kiełkowanie endospor *C. difficile*, rozmnażanie postaci wegetatywnych tego zarazka i produkcję enterotoksyn (30, 31). Toksyny szczepów toksynogennych *C. difficile* uszkadzają komórki nabłonka okrężnicy, rozwijają się ciężkie zapalenie okrężnicy, u człowieka rzekomo błoniaste zapalenie okrężnicy (32). U człowieka *C. difficile* odpowiada za około 20% ciężkich poantybiotykowych biegunek i prawie za 100% przypadków rzekomobłoniastego zapalenia okrężnicy (33).

Immunosupresja, a zwłaszcza jej współistnienie z antybiotykoterapią, przez osłabienie odpowiedzi immunologicznej organizmu na zakażenie i działanie toksyn zarazka sprzyjają rozwojowi choroby (5). Immunosupresja może mieć związek z niepełną

dojrzałością układu immunologicznego u noworodków i bardzo młodych osobników oraz z „fizjologicznym” starzeniem się układu immunologicznego, a także współistnieć z chorobą nowotworową, cukrzycą, chorobami nerek, hipalbuminemią, leczeniem immunosupresantami i występować po ciężkich zabiegach chirurgicznych (34).

W infekcji laseczek *C. difficile*, bakterii toksynotwórczej o minimalnej zdolności do inwazji w głąb organizmu przez ścianę jelita, głównym mechanizmem obronnym są przeciwciała neutralizujące toksyny i przeciwciała przeciwko antygenom ściany bakterii, a mniejsze znaczenie odgrywa odpowiedź nieswoista związana z aktywacją dopełniacza drogą alternatywną, opsonizacją komórek bakteryjnych, co umożliwia ich fagocytozę, wydzielaniem interleukiny IL-1 i IL-23 przez makrofagi pobudzone antygenami *C. difficile*. Przeciwciała blokują przy tym enzymy hydrolityczne, które ułatwiają rozprzestrzenianie się bakterii w tkankach.

Zakażenia *C. difficile* u koni

Clostridioides difficile jest jedną z najważniejszych przyczyn biegunki i zapalenia okrężnicy (CDAD, *C. difficile* associated disease) u źrebiąt i dorosłych koni (35, 36). Infekcja szerzy się najczęściej drogą fekalno-oralną, źródłem zakażenia jest kał zdrowych i chorych koni, ludzi, psów, kotów (37) i innych gatunków zwierząt siewców, gleba oraz lecnice zanieczyszczone postaciami wegetatywnymi i endosporami *C. difficile* (15, 38). Nosicielstwo przez zdrowe źrebięta waha się od 0 do 3%, u dorosłych może dochodzić do 10% i może mieć charakter okresowy.

U koni dorosłych głównym czynnikiem ryzyka, podobnie jak u człowieka, jest antybiotykoterapia z użyciem erytromycyny, trimetoprimu/sulfonamidów, antybiotyków β -laktamowych, klindamycyny, rifampicyny i gentamycyny oraz hospitalizacja. Klindamycyna oprócz zaburzenia składu mikrobiomu przewodu pokarmowego zwiększa zdolność kolonizacyjną *C. difficile* (38). Godny uwagi jest fakt, że szczepy *C. difficile* izolowane od koni odporne na metronidazol cechują się większą zjadliwością od szczepów wrażliwych na ten chemioterapeutyk. Często u źrebiąt w wieku poniżej tygodnia, sporadycznie u starszych źrebiąt i dorosłych koni, CDAD występuje niezależnie od antybiotykoterapii lub hospitalizacji (16).

Występują sporadyczne zachorowania i epidemie (39). Brak swoistych objawów CDAD, ponieważ są one bardzo zbliżone do objawów występujących w zakażeniu *Clostridium perfringens* lub salmonelozie. Zarówno u źrebiąt, jak i u dorosłych koni najważniejszym objawem jest biegunka, której często towarzyszy przekrwienie błon śluzowych, gorączka, przyspieszenie tętna i oddechów, odwodnienie, podkaszanie brzucha i kolka (40). U noworodków pojawia się nagle wodnista lub krwawa biegunka, odwodnienie, czasem rozwija się toksemia poprzedzająca śmierć. Większość źrebiąt i dorosłych osobników przeżywa, ale śmiertelność może wynosić nawet 42% (41).

Lokalizacja zmian anatomopatologicznych w przewodzie pokarmowym zależy w dużym stopniu od

wieku chorych koni. U źrebiąt w wieku poniżej miesiąca zawsze zmiany dotyczą jelit cienkich, nie zawsze występują w okrężnicy i jelicie ślepym. U starszych źrebiąt i koni zmiany z reguły występują w okrężnicy, czasem w jelicie ślepym, bardzo rzadko w jelitach cienkich (39). Zmiany nie są patognomoniczne. Błona śluzową jelit cienkich i grubych pokrywają rozsiane wybroczyny lub skupiska wybroczyn, błona surowicza jest silnie przekrwiona lub pokryta wybroczynami. U źrebiąt treść jelit jest płynna z domieszką krwi lub ma konsystencję półpłynną i barwę zielonobrazową. U starszych źrebiąt i zwierząt dorosłych treść okrężnicy i jelita ślepego ma barwę zieloną lub jasnobrazową, niekiedy zawiera domieszkę krwi i ma konsystencję gęstego płynu. Jelita cienkie są niezmięnione lub mają zgrubiałą ścianę, nabłonek pokrywają błony rzekome. Ściana jelita ślepego i okrężnicy jest zgrubiała na skutek obrzęku śluzówki i podśluzówki, śluzówkę pokrywają w wielu miejscach lub całą jej powierzchnię ciemnozielone lub barwy czerwonej błony rzekome (13). Efektem szoku toksycznego są wysięki surowicze lub surowiczo-krwiste w nasierdziu, obrzęk i przekrwienie płuc rozsiane wybroczyny i wylewy krwawe pod wsierdziem i błonami surowiczymi. Zmiany histopatologiczne w jelitach cienkich źrebiąt noworodków cechują się rozlaną martwicą śluzówki jelit, obrzękiem podśluzówki, przekrwieniem i wybroczynami w podśluzówce jelit. W okrężnicy koni występuje rozlana martwica koagulacyjna z zakrzepami w drobnych i średnich naczyniach krwionośnych śluzówki i podśluzówki, skupiska laseczek Gram-dodatnich i czasem nacieki neutrofilii w obrzękłej śluzówce i podśluzówce (36). W rozpoznaniu należy uwzględnić objawy i zmiany anatomopatologiczne (zmartwiające zapalenie jelit, zapalenie okrężnicy), wywiad (antybiotykoterapia, hospitalizacja). Najważniejsze znaczenie w diagnostyce ma wykrycie toksyny TcdA, toksyny TcdB lub obu toksyn w treści jelit lub w kale testem PCR lub komercyjnym testem ELISA w przesączach z hodowli *C. difficile* (13, 42). Wykonuje się też testy działania cytotoksycznego na hodowlach komórkowych.

Zakażenia *C. difficile* u świń

Clostridioides difficile często występuje w przewodzie pokarmowym zdrowych świń, wchodząc w skład mikrobiomu jelitowego. Występuje u około 70% loch. Prosięta zakażają się *per os* w prosiętnikach, w których są obecne endospory *C. difficile* wydalane wraz z kałem macior. Czynnikiem predysponującym prosięta do zachorowania jest niska naturalna odporność przeciwzakaźna związana z wiekiem i brak wykształconego mikrobiomu jelit (43), wysoka dawka zakaźna genotypów toksynotwórczych zarazka. Jeżeli poziom odporności siarowej przekazanej przez matkę jest niski, to prosięta zachorują w przypadku zakażenia nawet niezbyt dużą dawką toksynogennych *C. difficile*. U starszych prosiąt rozwój mikrobiomu obfitego w bakterie hamujące rozmnażanie *C. difficile* uniemożliwia rozwój zakażenia i choroby. Dopiero dłużej trwająca antybiotykoterapia, która zaburzy skład mikrobiomu, stwarza warunki do rozwinięcia

działania chorobotwórczego patogennych genotypów *C. difficile*.

Chorują prosięta w wieku do 3 tygodni, najczęściej w wieku 1–7 dni. Biegunka, będąca jednym z głównych objawów, występuje wkrótce po urodzeniu i często dotyczy 2/3 miotu. Kał o ciastowatej konsystencji ma barwę żółtą. Może też wystąpić wodnista biegunka. Czasem bieguncie towarzyszy duszność o średnim nasileniu, apatia, powiększenie objętości brzucha związane z nagromadzeniem się wysięku w jamie brzusznej. Wysięk występuje także w jamie klatki piersiowej (44). U knurów występuje obrzęk moszny. Przy zachorowalności wynoszącej średnio około 20% (10–90%) prosiąt śmiertelność przy braku zakażeń wtórnych (*E. coli*, *Salmonella*, rotawirusy) rzadko dochodzi do 50%. Opisano też nagłe zachorowania i padanie macior po oproszeniu wśród objawów biegunki i zaburzenia czynności układu oddechowego.

Wśród zmian anatomopatologicznych u prosiąt dominuje odwodnienie, obrzęk krezki okrężnicy, zapalenie okrężnicy i powiększenie oraz zgrubienie jej ściany okrężnicy, zapalenie jelita ślepego, obecność błon rzekomych na skutek zwiększonej przepuszczalności naczyń włosowatych ściany okrężnicy oraz wykrępanie się włókniaka. W jamie brzusznej i w jamie klatki piersiowej występuje wysięk. Ogniska zapalne stwierdza się w blaszce właściwej okrężnicy, naciek neutrofilowy występuje w krezce okrężnicy (45).

Zakażenia *C. difficile* u psów

Psy i koty towarzyszące pacjentom z błoniastym zapaleniem okrężnicy, a także chorym zwierzętom zakażają się drogą fekalno-oralną nie tylko rybotypami typowymi dla zwierząt, ale i rybotypami występującymi u człowieka (46). Rybotypy 010 i 014/020 chorobotwórcze dla psów i dla człowieka (46). Podobnie jak u hospitalizowanych ludzi, również u psów najważniejszym czynnikiem ryzyka jest hospitalizacja. *C. difficile* izolowano od 18,4% psów hospitalizowanych, przy czym szczepy toksynotwórcze stanowiły 50% izolatów (47). *C. difficile* występuje w jelitach od 1 do 57% zdrowych psów i kale od 2 do 25% psów z biegunką (48). *C. difficile* zdrowych psów nie produkują toksyn i należą do rybotypu 009 i 010, podczas gdy izolaty pochodzące od psów z biegunką posiadają geny odpowiedzialne za produkcję toksyny TcdA i TcdB (49). Nosicielstwo może występować od 11 do 40% psów, przy czym nosicielstwo toksynotwórczych genotypów *C. difficile* czasem przekracza nawet 50% psów towarzyszących człowiekowi (50).

Zapalenie jelit grubych (IBD, inflammatory bowel disease) u psów jest spowodowane zmianą składu składu mikrobiomu pod wpływem antybiotykoterapii i namnożeniem toksynotwórczych szczepów *C. difficile* (51). Dochodzi do obniżenia ilości produkowanych krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych, zmiany potencjału oksydoredukcyjnego treści jelita, zaburzenia metabolizmu kwasów żółciowych, a w efekcie zaostrzenia stanu zapalnego jelita wywołanego toksynami *C. difficile* (52).

Zakażenie może przebiegać bezobjawowo, w postaci łagodnej biegunki z tendencją do ustępowania

bez leczenia lub w formie ciężkiej. Wtedy występuje gorączka, obfita wodnista i cuchnąca biegunka z częstymi wypróżnieniami, postępującym odwodnieniem i leukocytozą. Kał może zawierać niewielką domieszkę świeżej krwi. Czasami występują wymioty. W ciężkim przebiegu choroby zapaleniu okrężnicy towarzyszy tworzenie błon rzekomych. Może dojść do perforacji okrężnicy, szoku i śmierci (5). Krwotoczne zapalenie żołądka i jelit spowodowane przez *C. difficile* występuje u psów rzadko.

Rozpoznanie opiera się o obserwacje kliniczne, charakter zmian w okrężnicy test PCR w kierunku stwierdzenia obecności genów toksyczności *C. difficile* w treści jelit i w kale, a także test ELISA do wykrywania toksyny A. Przecięcie dróg zakażenia odgrywa kluczową rolę w profilaktyce i zwalczaniu choroby. W schroniskach i hodowlach psów należy izolować chore zwierzęta, wprowadzić depopulację, odkażanie (53).

Zakażenia *C. difficile* u kotów

Aż do 58% kotów zdrowych, szczególnie młodych, odwiedzających chorych właścicieli w szpitalach jest zakażonych przez *C. difficile*. Źródłem zakażenia są też koty, psy, a także pomieszczenia i karma zanieczyszczona endosporami tego zarazka oraz schroniska dla zwierząt. *C. difficile* izolowano od 14,3% kotów z biegunką poantybiotykową (54). Zachorowania występują u kotów po antybiotykoterapii, atonii jelit, po operacjach jelit. Szczepy toksynotwórcze wywołują biegunkę (55). Rybotypy 014/020 i 045 izolowane od kotów mogą zakażać człowieka (46). W klinice weterynaryjnej Uniwersytetu Kalifornijskiego z kału 23 (9,4%) z 245 kotów wyizolowano *C. difficile*, przy czym 8 izolatów produkowało toksyny (56).

Zakażenia *C. difficile* u bydła

C. difficile zakaża cielęta i dorosłe bydło. Badania wykonane w Kanadzie wykazały, że siewstwo *C. difficile* z kałem przez cielęta przed i po opuszczeniu cielętnika wynosiło odpowiednio 3,3 i 5,5%. Dominował wśród izolatów rybotyp 079, patogenny dla człowieka (57). Natomiast zakażenie bydła mięsnego toksynotwórczymi rybotypami może wynosić nawet 11,3% (58). Rybotyp 033 *C. difficile* kolonizuje przewód pokarmowy cieląt tuż po urodzeniu i od 24. godz. życia, zmniejsza się ilość *C. difficile* w kale wraz z wiekiem cieląt. Bydło w Kanadzie może też zasiedlać rybotyp 027 patogenny dla człowieka (59). Zarazek izoluje się nie tylko w treści przewodu pokarmowego i kału zdrowych cieląt, ale także od cieląt z biegunką, przypisuje się *C. difficile* u cieląt rolę przyczynową w błoniastym zapaleniu okrężnicy. Obecność toksyn stwierdzono w kale 39,6% cieląt z biegunką i 20,9% zdrowych cieląt (60). U cieląt zakażonych na drodze naturalnej *C. difficile*, u których występowała biegunka, toksynę TcdA stwierdzono w kale 25,3, a TcdB 22,9% chorych cieląt. Dominował rybotyp 078. Wśród zmian w okrężnicy dominowały nadżerki śluzówki oraz obecność błon rzekomych, naciek neutrofilowy i eozynofilowy błony właściwej okrężnicy (61).

Mielona cielęcina, wieprzowina i wołowina w sprzedaży detalicznej mogą być zanieczyszczone endosporami *C. difficile*. Izolowano *C. difficile* z 12 (20%) na 60 próbek mięsa mielonego w 2005 r. w Kanadzie, 8 (67%) izolatów należało do rybotypu 027, 11 wytwarzało toksyny (62). W innych badaniach *C. difficile* izolowano z 12% badanych próbek mielonego mięsa wołowego (63).

Zakażenia *C. difficile* u człowieka

W jelitach człowieka mogą występować zarówno nietoksynotwórcze, jak i toksynotwórcze genotypy *C. difficile*. *C. difficile* kolonizuje przewód pokarmowy 60–70% noworodków i dzieci w wieku poniżej 12.–18. miesiąca życia, często występuje w składzie mikrobiomu dorosłych, ale w niewielkich ilościach. Występuje u 20–40% hospitalizowanych starszych osób (64). Źródłem zakażenia często są zwierzęta, szczególnie psy i koty, oraz szpitale. Zarówno u człowieka, jak i u wspomnianych zwierząt występuje rybotyp 014/0 bardzo częsty u chorych w szpitalach oraz wysocze zakaźne rybotypy 027 i 078 izolowane od chorych ludzi i od psów (65, 66). *C. difficile* łatwo przenosi się w szpitalach, domach opieki, przez kontakt z zakażonym pacjentem, a także ze sprzętem, pościelą i powierzchniami.

W okrężnicy człowieka za „oporność kolonizacyjną” odpowiadają mikrobiota mikrobiomu (17), które uniemożliwiają kolonizację okrężnicy przez bakterie obecne w środowisku, w pożywieniu i wodzie, oraz hamują nadmierny wzrost szkodliwych dla organizmu składowych mikrobiomu, np. *C. difficile* (18, 19).

Najważniejszym czynnikiem ryzyka wystąpienia rzekomobłoniastego zapalenia okrężnicy spowodowanego przez *C. difficile* jest antybiotykoterapia trwająca co najmniej 5–10 dni antybiotykami o szerokim spektrum działania, która zaburza oporność kolonizacyjną mikrobiomu okrężnicy, oraz zmniejszona sprawność układu odpornościowego związana z wiekiem (67). Przy współwystępowaniu kilku czynników ryzyko zwiększają niezależnie: podeszły wiek, stosowanie antybiotyków, współistniejące choroby (cukrzyca, choroba nowotworowa) oraz długi pobyt w szpitalu (64). W szpitalach w Europie liczba zachorowań może osiągać 36,3/10 tys. pacjentów/dzień (68). Okres wylegania choroby może nawet trwać do dwóch miesięcy. Następstwem działania toksyn powstających przy obfitym namnożeniu się *C. difficile* w jelitach jest stan zapalny, martwica i złuszczenie się komórek nabłonka, powstają w ten sposób nadżerki i owrzodzenia ściany jelita, zostaje też uszkodzona ściana naczyń włosowatych okrężnicy. Złuszczone nabłonki, śluz i wytrącający się włóknik pokrywają wnętrze jelita błonami rzekomymi w formie tarczki lub łatek. U pacjentów występuje silna biegunka z ponad 10–15, a nawet z 30 wypróżnieniami na dobę i obecnością krwi lub ropy w wodnistym kale, gorączka, nudności, zaburzenia krążenia lub czynności nerek, utrata łaknienia, odwodnienie, wzrost ogólnej liczby leukocytów w krwi obwodowej. Dodatkowym objawem jest bardzo silny, kurczowy ból brzucha, który umiejscawia się głównie w dolnych partiach brzucha. Śmierć występuje u około 0,6% pacjentów w ciągu kilku dni

od wystąpienia objawów choroby. W postaci łagodnej choroby występują bóle brzucha, gorączka i biegunka (29). W ostatnich latach coraz częściej infekcję *C. difficile* notuje się u zdrowej młodzieży, nie ma ona związku z antybiotykoterapią. *C. difficile* jest przyczyną rzekomo błoniastego zapalenia okrężnicy z silnym wodobrzuszem, wysięku opłucnowego, ropni wątroby, zaburzeń krążenia, niewydolności nerek i ostrej niewydolności oddechowej (27, 26, 69). Diagnostyka zakażeń polega na wykrywaniu antygenu GDH (glutamate dehydrogenase, dehydrogenaza glutaminianowa) oraz toksyn A/B *C. difficile* w kale biegunkowym pacjenta. Profilaktyka polega na przyjmowanie preparatów zawierających probiotyki w trakcie i po antybiotykoterapii oraz przestrzeganiu zasad higieny.

Piśmiennictwo

- Cleaveland S., Laureson M.K., Taylor L.H.: Diseases of humans and their domestic mammals: pathogen characteristics, host range and their risk of emergence. *Philos Trans. R. Soc. Land B Biol. Sci.* 2001, **356**, 991–999.
- Massenger A.M., Barnes A.N., Gray G.C.: Reverse zoonotic disease transmission (Zooanthroponosis): A systematic review of seldom-documented human biological threats to animals. *PLoS One* 2014, **9**: e89055.
- Ewers C., Grobbel M., Stamm I., Kopp P.A., Diehl I., Semmler T., Fruth A., Beutlich J., Guerra B., Wieler L.H., Guenther S.: Emergence of human pandemic O25:H4-ST131 CTX-M-15 extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* among companion animals. *J. Antimicrob. Chemother.* 2010, **65**, 651–660.
- Morris J.G. jr., Potter M.: Emergence of new pathogens as a function of changes in host susceptibility. *Emerg. Infect. Dis.* 1997, **3**, 435–441.
- Rupnik M.H., Wilcox D.N., Gerding D.N.: Clostridium difficile infection: new developments in epidemiology and pathogenesis. *Nat. Rev. Microbiol.* 2009, **7**, 526–536.
- Rabold D., Espelage W., Abu Sin M., Eckmanns T., Schneeberg A., Neubauer H., Möbius M., Hille K., Wieler L.H., Seyboldt C., Lübke-Becker A.: The zoonotic potential of Clostridium difficile from small companion animals and their owners. *PLoS One* 2018, doi: 10.1371/journal.pone.0193411.
- Andrés-Lasheras S., Martín-Burriel I., Mainar-Jaime R.C., Morales M., Kuijper E., Blanco J.L., Chirino-Trejo M., Bolea R.: Preliminary studies on isolates of Clostridium difficile from dogs and exotic pets. *BMC Vet. Res.* 2018, **14**, 77, doi: 10.1186/s12917-018-1402-7.
- Bauer M.P., Notermans D.W., van Benthem B.H., Brazier J.S., Wilcox M.H., Rupnik M., Monnet D.L., van Dissel J.T., Kuijper E.J.: Clostridium difficile infection in Europe: a hospital-based survey. *Lancet* 2011, **377**, 63–73.
- Songer J.G., Anderson M.A. Clostridium difficile: an important pathogen of food animals. *Anaerobe* 2006, **12**, 1–4.
- Rupnik M., Songer J.G. Clostridium difficile: its potential as a source of foodborne disease. *Adv. Food Nutr. Res.* 2010, **60**, 53–66.
- Rodriguez C., Taminiau B., Van Broeck J., Avesani V., Delmee M., Daube G. Clostridium difficile in young farm animals and slaughter animals in Belgium. *Anaerobe* 2012, **18**, 621–625.
- Lawson P.A., Citron D.M., Tyrrell K.L., Finegold S.M.: Reclassification of Clostridium difficile as Clostridioides difficile (Hall and O'Toole 1935) Prevot 1938. *Anaerobe* 2016, **40**, 95–99.
- Keel M.K., Songer J.G.: The comparative pathology of Clostridium difficile-associated disease. *Vet. Pathol.* 2006, **43**, 225–240.
- Bartlett J.G.: Clostridium difficile: history of its role as an enteric pathogen and the current state of knowledge about the organism. *Clin. Infect. Dis.* 1994, **18**, (Suppl. 4), 265–272.
- Weese J.S., Staempfli H.R., Prescott J.F.: Isolation of environmental Clostridium difficile from a veterinary teaching hospital. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2000, **12**, 449–452.
- Båverud V.: Clostridium difficile diarrhea: infection control in horses. *Vet. Clin. North Amer. Equine Pract.* 2004, **20**, 615–630.
- Ley R., Walter J.: The human gut microbiome: Ecology and recent evolutionary changes. *Annu. Rev. Microbiol.* 2011, **65**, 411–429.
- Buffie C.G., Pamer E.G.: Microbiota-mediated colonization resistance against intestinal pathogens. *Nat. Rev. Immunol.* 2013, **13**, 790–801.
- Kim S., Covington A., Pamer E.G.: The intestinal microbiota: Antibiotics, colonization resistance, and enteric pathogens. *Immunol. Rev.* 2017, **279**, 90–105.
- Suchodolski J.S., Camacho J., Steiner J.M.: Analysis of bacterial diversity in the canine duodenum, jejunum, ileum, and colon by

- comparative 16S rRNA gene analysis. *FEMS Microbiol. Ecol.* 2008, **66**, 567–578.
21. Hussack G., Arbabi-Ghahroudi M., Mackenzie C.R., Tanha J.: Isolation and characterization of *Clostridium difficile* toxin-specific single-domain antibodies. *Methods Mol. Biol.* 2012, **911**, 211–239.
 22. Davies A.H., Roberts A.K., Shone C.C., Acharya K.R. Super toxins from a super bug: structure and function of *Clostridium difficile* toxins. *Biochem. J.* 2011, **436**, 517–526.
 23. Barbieri J.T., Riese M.J., Aktories K.: Bacterial toxins that modify the actin cytoskeleton. *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.* 2002, **18**, 315–344.
 24. Bartlett J.G., Perl T.M.: The new *Clostridium difficile* – what does it mean? *N. Engl. J. Med.* 2005, **353**, 2503–2505.
 25. Schwan C., Stecher B., Tzivelekidis T., van Ham M., Rhode M., Hardt W.D., Wehland J., Aktories K.: *Clostridium difficile* toxin CDT induces formation of microtubule-based protrusions and increases adherence of bacteria. *PLoS Path.* e1000626, 2009.
 26. Jacob S.S., Sebastian J.C., Hiorns D., Jacob S., Mukerjee P.K.: *Clostridium difficile* and acute respiratory distress syndrome. *Heart Lung* 2004, **33**, 265–268.
 27. Sakurai T., Hajiro K., Takakuwa H., Nishi A., Aihara M., Chiba T.: Liver abscess caused by *Clostridium difficile*. *Scand. J. Infect. Dis.* 2001, **33**, 69–70.
 28. Di Bella S., Ascenzi P., Siarakas S., Petrosillo N., di Masi A.: *Clostridium difficile* toxins A and B: Insights into pathogenic properties and extra intestinal effects. *Toxins* 2016, **8**, 134, 2016, doi: 10.3390/toxins8050134.
 29. Heinlen L., Ballard J.D.: *Clostridium difficile* infection. *Am. J. Med. Sci.* 2010, **340**, 247–252.
 30. Sorg J.A., Sonenshein A.L.: Bile salts and glycine as cogerminants for *Clostridium difficile* spores. *J. Bacteriol.* 2008, **190**, 2505–2512.
 31. Burns D.A., Heap J.T., Minton N.P.: *Clostridium difficile* spore germination: An update. *Res. Microbiol.* 2010, **161**, 730–734.
 32. Bartlett J.G., Moon N., Chang T.W., Taylor N., Onderdonk A.B.: Role of *Clostridium difficile* in antibiotic-associated pseudomembranous colitis. *Gastroenterology* 1978, **5**, 778–782.
 33. Leffler D.A., Lamont J.T.: *Clostridium difficile* infection. *N. Engl. J. Med.* 2015, **373**, 287–288.
 34. Islam J., Taylor A.L., Roa K., Huffnagle G., Young V.B., Rajkumar C., Cohen J., Papatheodorou P., Aronoff D.M., Llewelyn M.J.: The role of the humoral immune response to *Clostridium difficile* toxins A and B in susceptibility to *Clostridium difficile* infection: A case – control study. *Anaerobe* 2014, **27**, 82–86.
 35. Weese J.S., Staempfli H.R., Prescott J.F.: A prospective study of the roles of *Clostridium difficile* and enterotoxigenic *Clostridium perfringens* in equine diarrhea. *Equine Vet. J.* 2001, **33**, 403–409.
 36. Diab S.S., Songer G., Uzal F.A.: *Clostridium difficile* infection in horses: a review. *Vet. Microbiol.* 2013, **167**, 42–49.
 37. Riley T.V., Adams J.E., O'Neill G.L., Bowman R.A.: Gastrointestinal carriage of *Clostridium difficile* in cats and dogs attending veterinary clinics. *Epidemiol. Infect.* 1991, **107**, 659–665.
 38. Deneve C., Delomenie C., Barc M.C., Collignon A., Janoir C.: Antibiotics involved in *Clostridium difficile*-associated disease increase colonization factor gene expression. *J. Med. Microbiol.* 2008, **57**, 732–738.
 39. Uzal F.A., Diab S.S., Blanchard P., Moore J., Anthenill L., Shahrirar F., Garcia J.P., Songer J.G.: *Clostridium perfringens* type C and *Clostridium difficile* co-infection in foals. *Vet. Microbiol.* 2012, **156**, 395–402.
 40. Weese J.S., Toxopeus L., Arroyo L.: *Clostridium difficile* associated diarrhea in horses within the community: predictors, clinical presentation and outcome. *Equine Vet. J.* 2006, **38**, 185–188.
 41. Arroyo L.G., Weese J.S., Staempfli H.R.: Experimental *Clostridium difficile* enterocolitis in foals. *J. Vet. Intern. Med.* 2004, **18**, 734–738.
 42. Gumerlock P.H., Tang Y.J., Weiss J.B., Silva jr. J.: Specific detection of toxigenic *Clostridium difficile* in stool specimens. *J. Clin. Microbiol.* 1993, **31**, 507–511.
 43. Båverud V.: *Clostridium difficile* infections in animals with special reference to the horse: A review. *Vet. Quart.* 2012, **24**, 203–219.
 44. Songer J.G., Uzal F.A.: Clostridial enteric infections in pigs. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2005, **17**, 528–536.
 45. Songer J.G.: Clostridia as agents of zoonotic disease. *Vet. Microbiol.* 2010, **140**, 399–404.
 46. Schneeberg A., Rupnik M., Neubauer H., Seyboldt C.: Prevalence and distribution of *Clostridium difficile* PCR ribotypes in cats and dogs from animal shelters in Thuringia, Germany. *Aerobe* 2012, **18**, 484–488.
 47. Struble A.L., Kass P.H., Tang Y.J., Gumerlock P.H.: Fecal shedding of *Clostridium difficile* in dogs: a period prevalence survey in a veterinary medical teaching hospital. *J. Vet. Diagn. Invest.* 1994, **6**, 342–347.
 48. Weese J.S., Staempfli H.R., Prescott J.F., Kruth S.A., Greenwood S.J., Weese H.E.: The roles of *Clostridium difficile* and enterotoxigenic *Clostridium perfringens* in diarrhea in dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 2001, **15**, 374–378.
 49. Marks S.L., Kather E.J., Kass P.H., Melli A.C.: Genotypic and phenotypic characterization of *Clostridium perfringens* and *Clostridium difficile* in diarrheic and healthy dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 2001, **16**, 533–540.
 50. Stone N.E., Sidak-Loftis L.C., Sahl J.W., Vazquez A.J., Wiggins K.B., Gillette J.D., Hicks N.D., Schupp J.M., Busch J.D., Keim P., Wagner D.M.: More than 50% of *Clostridium difficile* isolates from pet dogs in Flagstaff, USA, carry toxigenic genotypes. *PLoS One*, 2016, **11**:e0164504.
 51. Minamoto Y., Dhanani N., Markel M.E., Steiner J.M., Suchodolski J.S.: Prevalence of *Clostridium perfringens*, *Clostridium perfringens* enterotoxin and dysbiosis in fecal samples of dogs with diarrhea. *Vet. Microbiol.* 2014, **174**, 463–473.
 52. Hall E.J.: Antibiotic-responsive diarrhea in small animals. *Vet. Clin. North America, Small Anim. Pract.* 2011, **41**, 273–286.
 53. Weese J.S., Armstrong J.: Outbreak of *Clostridium difficile*-associated disease in a small animal veterinary teaching hospital. *J. Vet. Intern. Med.* 2003, **17**, 813–816.
 54. Harmanus C., Blanco J.L., Hermanus C., Kuijper E.J., Garcia M.E.: Data from a survey of *Clostridium perfringens* and *Clostridium difficile* shedding by dogs and cats in the Madrid region (Spain), including phenotypic and genetic characteristics of recovered isolates. *Data in Brief* 2017, **14**, 88–100.
 55. Weese J.S., Weese H.E., Bourdeau T.L., Staempfli H.R.: Suspected *Clostridium difficile* – associated diarrhea in two cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2001, **218**, 1436–1439.
 56. Madewell B.R., Bea J.K., Kraegel S.A., Winthrop M., Tang Y.J., Silva J. Jr.: *Clostridium difficile*: a survey of fecal carriage in cats in a veterinary medical teaching hospital. *J. Vet. Diagn. Invest.* 1999, **11**, 50–54.
 57. Costa M.C., Reid-Smith R., Gow S., Hannon S.J., Booker C., Rousseau J., Benedict K.M., Morley P.S., Weese J.S.: Prevalence and molecular characterization of *Clostridium difficile* isolated from feedlot beef cattle upon arrival and mid-feeding period. *BMC Vet Res* 2012, **8**, 38, <https://doi.org/10.1186/1746-6148-8-38>.
 58. Rodriguez C., Hakimi D.E., Vanlysssem R., Taminiau B., van Broeck J., Delmée M., Korsak N., Daube G.: *Clostridium difficile* in beef cattle farms, farmers and their environment: Assessing the spread of the bacterium. *Vet. Microbiol.* 2017, **210**, 183–187.
 59. Bardelij P., Harmanus C., Blagus R., Cotman M., Kuijper E.J., Ocepek M., Vengust M.: Quantification of *Clostridioides (Clostridium) difficile* in feces of calves of different age and determination of predominant *Clostridioides difficile* ribotype 033 relatedness and transmission between dairy farms using multilocus variable-number tandem-repeat analysis. *BMC Vet. Res.* 2018 Oct. 1; **14**(1): 298, doi: 10.1186/s12917-018-1616-8.
 60. Rodriguez-Palacios A., Staempfli H.R., Duffield T., Peregrine A.S., Trotz-Williams L.A., Arroyo L.G., Brazier J.S., Weese J.S.: *Clostridium difficile* PCR ribotypes in calves, Canada. *Emerg. Infect. Dis.* 2006, **12**, 1730–1736.
 61. Hammit M.C., Bueschel D.M., Keel M.K., Glock R.D., Cuneo P., DeYoung D.W., Reggiardo C., Trinh H.T., Songer J.G.: A possible role for *Clostridium difficile* in the etiology of calf enteritis. *Vet. Microbiol.* 2008, **127**, 343–352.
 62. Rodriguez-Palacios A., Staempfli H.R., Duffield T., Weese J.S.: *Clostridium difficile* in retail ground meat, Canada. *Emerg. Infect. Dis.* 2007, **13**, 485–487.
 63. Weese J.S., Avery B.P., Rousseau J., Reid-Smith R.J.: Detection and enumeration of *Clostridium difficile* spores in retail beef and pork. *Appl. Environ. Microbiol.* 2009, **75**, 5009–5011.
 64. McFarland L.V., Surawicz C.M., Stamm W.E.: Risk factors for *Clostridium difficile* carriage and C. difficile-associated diarrhea in a cohort of hospitalized patients. *J. Infect. Dis.* 1990, **162**, 678–684.
 65. Rabold D., Espelage W., Abu Sin M., Eckmanns T., Schneeberg A., Neubauer H., Möbius M., Hille K., Wieler L.H., Seyboldt C., Lübke-Becker A.: The zoonotic potential of *Clostridium difficile* from small companion animals and their owners. *PLoS One*. 2018, doi: 10.1371/journal.pone.0193411.
 66. Borriello S.P., Honour P., Turner T., Barclay F.: Household pets as a potential reservoir for *Clostridium difficile* infection. *J. Clin. Pathol.* 1983, **36**, 84–87.
 67. Owens R.C. jr, Donskey C.J., Gaynes R.P., Loo V.G., Muto C.A.: Antimicrobial-associated risk factors for *Clostridium difficile* infection. *Clin. Infect. Dis.* 2008, **46**, Suppl 1, 19–31.
 68. Bauer M.P., Notermans D.W., van Benthem B.H., Brazier J.S., Wicox M.H., Rupnik M., Monnet D.L., van Dissel J.T., Kuijper E.J.: *Clostridium difficile* infection in Europe: a hospital based survey. *Lancet* 2011, **377**, 63–73.
 69. Tsourous G.L., Raftopoulos L.G., Kafe E.E., Manolieris E.K., Makaritis K.P., Pinis S.G.: A case of pseudomembranous colitis presenting with massive ascites. *Eur. J. Intern. Med.* 2007, **18**, 328–330.