

***Clostridium difficile* toksīnu molekulārā diagnostika**

Oksana Savicka, Jeļena Storoženko, Baiba Rozentāle

*Rīgas Austrumu klīniskā universitātes slimnīca,
stacionārs "Latvijas Infektoloģijas centrs", Latvija*

Ievads. Saskaņā ar Eiropas slimību kontroles un profilakses centra (ECDC) epidemioloģisko ziņojumu *C. difficile* infekcija (CDI) slimnīcās ir 123 997 gadījumi gadā un aizņem astoto vietu starp veselības aprūpē saistītām infekcijām. Eiropas Savienībā mirstības gadījumi no CDI var sasniegt apmēram 3700 gadā. *C. difficile* infekcijas riska pamatfaktori ir antibiotiku, it īpaši plaša spektra, pielietošana un pacientu hospitalizēšana stacionāros, citi faktori ir vecums, ķirurģiskās manipulācijas, citas infekcijas, piemēram, HIV, cukura diabēts, zarna trakta iekaisumi, kolīti. *C. difficile* A un B toksīni izraisa zarnu sienas bojājumus un iekaisumus epitēlija barjeras traucējumu, pretiekaisuma citokīnu indukcijas, apoptozes un epiteliocītu nekrozes dēļ. Klīniskais simptoms (atkarībā no smaguma pakāpes) – diareja vai diareja ar asinīm. Materiāls toksīnu atrašanai – fekālijas. Virulences pamatfaktori – mikroorganismu patogenitātes pakāpe, to potenciālā iespēja izraisīt infekciozu procesu ar toksīnu A (*tcdA*) un toksīnu B (*tcdB*). Gēniem, kuri kodē toksīnu A un B, nukleotīdu secībās ir 66% identitāte. Literatūras dati liecina, ka toksīnam B ir svarīgākā virulences nozīme. Eiropā un Amerikā ir konstatēti jauni hipervirulenti *C. difficile* celmi, kas atšķiras atkarībā no tipēšanas veida: NAPI/B1/027 (restriktnukleāzes analīze), tips NAP1 (*North American pulsed-field gel electrophoresis type 1*), ribotips 027 (polimerāzes ķēdes reakcija, PĶR). Ribotips 027 var izraisīt rezistenci pret ftorhinoliem, un tiem ir mutēts gēns *tcdC*, kurš, kā rāda pētījumi, atbild par toksīna A izstrādi – 16 reizes un toksīna B izstrādi – 23 reizes vairāk, turklāt šis celms producē trešo bināro toksīnu *cdt* (*cytolethal distending toxin*), kurš parādās apmēram 6% *C. difficile* celmu un tiek uzskatīts par jaunu virulences marķieri.

Darba mērķis, materiāls un metodes. Mērķis: noteikt *C. difficile* toksīnu gēnus (*tcdB*, *cdt*, *tcdC*), izmantojot reālā laika polimerāzes ķēdes reakcijas (RL-PĶR) testsistēmu *GeneXpert Cl. difficile*. Nukleīnskābes noteikšanai pret toksigēniem celmiem ar RL-PĶR ir augsta jutība – 93% un specifitāte – 100%. PĶR testsistēmas galvenokārt ir izstrādātas B toksīna noteikšanai, bet ir arī testsistēma *GeneXpert C. difficile*, kura nosaka trīs toksīnu gēnus (*tcdB*, *cdt*, *tcdC*). No 01.06.2015. līdz 01.12.2016. ar RL-PĶR tika veikta 1013 pacientu izkārņījumu testēšana.

Rezultāti. No 1013 izmeklētajiem izkārņījumu paraugiem 230 (22,7%) gadījumos tika atrastas pozitīvas toksigēnās *C. difficile* DNS un 783 (77,3%) gadījumos rezultāts ir bijis negatīvs. Analizējot pozitīvos rezultātus, visiem paraugiem tika atrasts B toksīna gēns *tcdB*, bet nav diagnosticēti hipervirulences gēnu marķieri, tādi kā *cdt* – binārais toksīns un *tcdC* gēns – ribotips 27. Pozitīvas toksigēnās *C. difficile* DNS galvenokārt tika konstatētas pacientiem pēc 60 gadu vecuma – 159 no 230 (69,2%) – un pacientiem līdz 60 gadu vecumam – 71 no 230 (30,8%).

Secinājumi. *C. difficile* infekcijas ierosinātāja virulences pamatfaktors ir B toksīns (*tcdB*). Infekcija biežāk ir sastopama pacientiem, kuri ilgstoši lietojuši antibakteriālo terapiju, it īpaši pacientiem pēc 60 gadu vecuma (69,2%), salīdzinot ar vecuma grupu līdz 60 gadiem (30,8%). Intrahospitālās infekcijas riska mazināšanai ir nepieciešama ātra un savlaicīga laboratoriskā diagnostika ar iespēju noteikt vairākus *C. difficile* toksīnu gēnus.