



“2° Iter formativo in Coloproctologia”

LA COLITE PSEUDOMEMBRANOSA

Dr. Alessandro Spizzirri



Università degli Studi di Perugia-sede di Terni

Scuola di Specializzazione in Chirurgia Generale

Clinica Chirurgica Generale e d'Urgenza

Az. Ospedaliera “S.Maria”-Terni

Indice

- *Introduzione* pag. 3
- *Ezio-patogenesi* pag. 5
- *Contagio, Relazioni con altre patologie, Incidenza* pag. 8
- *Quadro clinico* pag. 13
- *Diagnosi* pag. 15
- *Quadro anatomo-patologico* pag. 19
- *Diagnosi differenziale* pag. 20
- *Trattamento* pag. 22
- *Prospettive future* pag. 27
- *Bibliografia* pag. 28

INTRODUZIONE

La colite pseudomembranosa (CP) o “Clostridium Difficile associated disease” (CDAD) è un’entità clinica caratterizzata da un’importante forma di colite su base infettiva, specie nei pazienti ospedalizzati (1,2).

L’agente eziologico responsabile è il Clostridium difficile, un bacillo Gram positivo anaerobio, la cui colonizzazione e proliferazione è favorita dall’esposizione della flora batterica intestinale anaerobia agli antibiotici (1).

Tale esposizione comporta la comparsa di placche rilevate bianco-giallastre sulla mucosa colica mentre le zone di mucosa interposte fra le placche appaiono relativamente normali.

Colpisce elettivamente il retto ed il colon sinistro (77-80% dei casi), mentre il trasverso, il colon destro ed il ceco sono interessati nel 5-19% dei casi(49).

La colite pseudomembranosa si manifesta spesso come complicanza post-chirurgica della chirurgia colo-rettale. Si può rinvenire anche nei pazienti sottoposti a chemioterapia, nei pazienti con IBD e nei pazienti immunodepressi.

La stragrande maggioranza dei casi di comparsa è senza dubbio legata all’esposizione a diversi tipi di antibiotici, più frequentemente a penicilline (ampicillina e amoxicillina), cefalosporine, clindamicina e lincomicina.

I quadri clinici possono essere assai eterogenei partendo da forme del tutto asintomatiche, forme intermedie con febbre e dolori addominali fino a forme estremamente gravi di colite come quelle conosciute con il termine di “colite fulminante da Clostridium difficile” (FCDC) (2).

Il trattamento medico viene riservato alle forme lievi e moderate e si avvale di vancomicina e metronidazolo; nelle forme più gravi e nelle forme complicate il

trattamento chirurgico si rende ovviamente inevitabile e consisterà in una colectomia totale o subtotale con ileostomia terminale.

EZIOPATOGENESI

La causa dell'insorgenza della colite pseudomembranosa è da ricondursi alla proliferazione e alla colonizzazione da parte del *Clostridium difficile* della flora batterica intestinale.

Il Cl. Difficile fu individuato per la prima volta nel 1935 ed identificato con il nome "Bacillus difficile" per il suo difficoltoso isolamento anaerobio dalle feci umane. Solo circa quarant'anni dopo venne definitivamente identificato come causa certa di colite pseudomembranosa, e rinominato *Clostridium difficile* (3).

Il Cl. difficile è un batterio anaerobio, Gram positivo, sporigeno. Le sue spore sono estremamente resistenti e difficili da eradicare ; esse presentano il massimo della loro virulenza in condizioni di alterazione della flora batterica intestinale e compromissione della risposta immunitaria (5).

Il Cl.difficile, inoltre, è produttore di diverse sostanze antigeniche, solubili ed extracellulari; due di queste sono tossine, un'enterotossina (o tossina A) ed una citotossina (o tossina B) (4,15).

La citotossina fecale, una tossina termolabile ed inattivata dall'azione di enzimi proteolitici, con peso molecolare variabile da 240000 a 600000 Δ , è stata coltivata su cellule embrionali umane, sulle quali ha comportato un effetto citolitico (5,6).

L'enterotossina, studiata su anse intestinali di coniglio, esprime la sua tossicità inducendo dilatazione emorragica e determinando la colite senza effetto sulle colture tissutali (4,7).

Esistono comunque vari ceppi con differenti potenziali patogeni, legati alla produzione della tossina A, della tossina B, di entrambe, ed anche ceppi A e B negativi non inducenti malattia.

Tutte le tossine sono prodotte da un cluster di geni, inclusi geni di regolazione come “tcdC”, le cui mutazioni sono responsabili della produzione delle tossine stesse(8).

La condizione predisponente alla comparsa della colite pseudomembranosa è senza dubbio la terapia antibiotica (9,10).; solo in una ristrettissima minoranza di casi gli antibiotici non possono essere incriminati (11).

Le molecole più comunemente implicate nella genesi della CP sono senza dubbio la lincomicina e la clindamicina (12); frequenti agenti causali di tale quadro sono anche l’ampicillina/amoxicillina, le cefalosporine, il cotrimossazolo, le tetracicline e gli aminoglicosidi.

L’unico requisito necessario allo sviluppo della malattia è la persistenza nel lume intestinale di una concentrazione di antibiotico tale da interferire con la normale flora batterica: ecco perché la terapia antibiotica per via orale non è più usata per la preparazione del colon all’intervento, in quanto porta ad un rischio aumentato rispetto all’antibiotico-profilassi per via parenterale (12,13).

Il meccanismo mediante il quale gli antibiotici determinano la colite non è ancora ben noto. Si suppone che la crescita del *Cl.difficile* (così come la sintesi delle sue tossine) sia impedita da alcune componenti normali della flora batterica intestinale la cui alterazione determinerebbe una riduzione dei processi fermentativi e della quantità endoluminale di acidi grassi a catena corta(79). Una terapia antibiotica ad ampio spettro, eliminando la flora normale, permetterebbe al *Cl.difficile* di proliferare e produrre la sua tossina (14).

Tale meccanismo può persistere per periodi più o meno lunghi, visto che la colite può insorgere anche a distanza di diverse settimane (3-5) dopo la sospensione degli

antibiotici, sebbene la maggior parte delle infezioni avvenga in genere entro i 5-7 giorni (16).

E' stato comunque dimostrato che anche una somministrazione antibiotica per breve periodo può essere complicata dalla colite da Cl.difficile.(17)

CONTAGIO, RELAZIONI CON ALTRE PATOLOGIE, INCIDENZA

Contagio

Il Cl. difficile è stato isolato nelle feci di neonati (18,19); ciò farebbe presupporre che esso sia una normale componente della flora batterica colica.

In realtà l'isolamento nell'adulto è estremamente più raro, facendo quindi presupporre che, se presente nella flora intestinale, lo sarebbe in modo molto poco rappresentativo (20).

D'altro canto esistono osservazioni secondo le quali la colite pseudomembranosa sia una vera infezione e che i nuovi casi derivino esclusivamente da infezioni per contagio (21,22).

L'accordo tra queste due opinioni, apparentemente contrastanti, presenti in letteratura, è stato identificato nella presunzione che il Cl. difficile non produttore di tossine è componente della normale flora batterica intestinale; solo quei ceppi in grado di produrre la tossina sono responsabili della colite, tant'è che esistono studi che dimostrano l'isolamento del Cl. difficile in pazienti sottoposti a terapia antibiotica, ma che non presentavano né colite né diarrea, proprio perché alcuni ceppi mancherebbero del potenziale patogeno (23).

Il contagio poi è dato dalla protratta escrezione fecale di questo microrganismo che spesso si continua anche per alcune settimane, dopo la sospensione della terapia antibiotica o dopo la regressione dei sintomi della colite pseudomembranosa(16).

Al fine di tenere sotto controllo il contagio intra-ospedaliero è sempre opportuno identificare quei pazienti che hanno precedentemente sofferto di un episodio di CP o pazienti a rischio, o portatori asintomatici del Cl. difficile e procedere ad un loro

opportuno isolamento (21,24), particolarmente quando la contaminazione può avvenire rapidamente, come nel caso di pazienti che soffrono di incontinenza fecale o sono portatori di una stomia (25).

Sarà poi necessario tenere presenti tutte quelle norme igienico-sanitarie che vanno dal lavaggio delle mani, uso e cambio frequente dei guanti, evitare l'uso di termometri rettali, la sterilizzazione di padelle, sigmoidoscopi, fino a porre la massima attenzione ai pazienti in terapia con farmaci inibitori di pompa (21,24,25,26).

Relazioni con altre patologie

La colite pseudomembranosa non presenta delle chiare e specifiche correlazioni con malattie concomitanti.

Essa, tuttavia, risulta caratteristicamente più frequente dopo interventi di chirurgia colo-rettale e, nell'ambito di questi, in particolar modo per quelli effettuati per carcinoma del colon, per malattia diverticolare e per altre malattie coliche (27).

Esiste una correlazione con altri interventi di chirurgia gastro-intestinale come quelli effettuati per occlusione acuta ileale, morbo di Crohn, interventi sullo stomaco e sulle vie biliari, che si associano all'insorgenza di colite pseudomembranosa con probabilità inferiore a quella della chirurgia colica (27,28).

La prevalenza della CP nella chirurgia colo-rettale è stata dimostrata anche da altri studi (29), in cui fino al 50% dei pazienti che presentavano diarrea da CI. Difficile era stato sottoposto a resezioni coliche per carcinoma.

La CP si presenta anche nei pazienti immunocompromessi affetti da patologie immuno-ematologiche come leucemie e linfomi, nei pazienti affetti da insufficienza respiratoria cronica, insufficienza renale, o da malattie del collagene, nei pazienti

sottoposti a regimi chemioterapici ed infine più frequentemente fra gli alcoolisti ed i tossicodipendenti (2,16,27,30).

Un cenno a sè merita la relazione della CP con le malattie infiammatorie croniche intestinali(IBD).

E' stato supposto che la enterotossina del Cl. difficile potrebbe essere implicata nelle recidive delle IBD (36).

Se è vero che i pazienti affetti da IBD vanno incontro più frequentemente all'insorgenza di una CP, risulta ormai smentito il ruolo che il Cl. difficile avrebbe nelle recidive di IBD (1).

Raramente infatti è stato ritrovato il Cl. difficile nelle feci di pazienti con IBD in ripresa di attività, dimostrando che il microrganismo non è associato all'attività di malattia e gioca un ruolo per nulla significativo nelle esacerbazioni (31).

Tutto al più la presenza di Cl. difficile in questi pazienti si associa ad un maggior numero di ricoveri ospedalieri e di terapie antibiotiche (32,33).

E' sempre opportuno dunque indagare la presenza di Cl. difficile nelle feci di pazienti con IBD che sviluppano una diarrea incoercibile durante o dopo una terapia antibiotica in quanto esso può essere responsabile del fallimento della terapia per la IBD (34,35).

Incidenza

Per quanto riguarda l'incidenza della CP è da chiarire che è molto difficile fornire una stima reale: l'incidenza infatti è un fattore che dipende dall'accuratezza nella ricerca della malattia e dalla frequenza con cui vengono eseguiti esami endoscopici e colturali delle feci in casi di diarrea.

In letteratura l'incidenza di CP varia dal 4% all'39% ed è spesso messa in correlazione con il tipo di antibiotico usato.

In uno studio eseguito da Keighley et al. (27) su 240 soggetti affetti da diarrea (definita come più di tre evacuazioni/die o come debito colostomico superiore ad un litro/die) e ricoverati per essere sottoposti ad interventi di chirurgia gastrointestinale, 119 (49%) furono sottoposti a terapia antibiotica e di questi 58 (24%) svilupparono diarrea. Di questi 9 (4%) risultarono positivi alla ricerca della tossina del Cl. difficile.

In altri studi l'infezione da Cl. difficile può interessare oltre l'8% dei pazienti ospedalizzati, specie se anziani ed immunocompromessi (1,37,38).

La CP rappresenta la complicità del 10% delle diarree associate ad antibiotici. Il Cl. difficile può essere rinvenuto nelle feci del 15-25% dei pazienti adulti asintomatici, ospedalizzati e sottoposti a terapia antibiotica(80).

Percentuali simili sono valide anche per i pazienti debilitati e per quelli in cui viene praticata una dose unica di antibiotico come profilassi ad interventi chirurgici.

La CP è una patologia molto rara nei lattanti e nei bambini, i quali sono notoriamente riconosciuti come portatori asintomatici; la bassa incidenza di CP in questi gruppi viene attribuita alla buona funzionalità del sistema immunitario (frequente la presenza di Ab anti-Clostridium difficile nei piccoli pazienti portatori).

La CP è la quarta malattia nosocomiale più frequente ed il Cl. difficile è uno tra gli enterobatteri patogeni più frequentemente coltiva su base infettiva isolato, secondo solo al Campylobacter jejuni.

I gruppi a più alto rischio di infezione sono gli anziani, i pazienti ricoverati nelle terapie intensive, quelli con insufficienza renale ed iperazotemia, gli ustionati, quelli operati per interventi di chirurgia addominale ,quelli neoplastici e le donne sottoposte a taglio cesareo(2,16,26,53).

In realtà i pazienti facenti parte dei gruppi menzionati non sono a rischio specifico di sviluppare una CP, ma a maggior rischio nei confronti delle infezioni nosocomiali in genere.

Il numero dei ricoveri per CP è andato costantemente crescendo negli ultimi 10 anni, passando, secondo statistiche americane redatte in tempi addirittura più brevi di una decade, dallo 0,27% del 2000 allo 0,51% nel 2003. L'aumento dell'incidenza è più evidente nei pazienti anziani; recenti studi hanno stimato, in questo gruppo di pazienti, un'incidenza pari a 228casi su 100.000/anno(80).

QUADRO CLINICO

Il quadro clinico di una CP può essere estremamente eterogeneo nelle modalità di insorgenza e di presentazione variando in base alle alterazioni indotte della flora batterica intestinale e alla validità della risposta immunitaria del paziente (34).

L'enterotossina A e la citotossina B inducono un processo infiammatorio che determina un ampio spettro di presentazione clinica che va dalle forme di colonizzazione asintomatiche fino alle forme fulminanti(15).

I casi meno gravi decorrono generalmente con febbre, diarrea e talvolta dolori addominali (3), mentre nei casi più gravi si ha un progressivo peggioramento del quadro clinico con febbre alta, dolore addominale severo fino all'ileo paralitico, distensione colica e talvolta perforazione(40).

I pazienti molto anziani o che presentano immunodepressioni severe da patologie immuno-ematologiche e da trapianti possono incorrere nella forma più grave di CP rappresentata dalla "Fulminant Clostridium Difficile Colitis" (FCDC) (2). Sebbene la maggior parte dei pazienti siano spesso asintomatici (15,41) o presentino diarrea associata ad antibiotici senza colite, ben il 25% di essi sviluppa una CP(42) e dall'1% al 3% progredisce verso una FCDC (43,44).

Non esiste allo stato attuale una definizione specifica di FCDC (45), sebbene la maggior parte dei pazienti possono presentare in modo severo uno o una combinazione di sintomi come diarrea profusa, dolore addominale severo, distensione colica, marcata disidratazione con oliguria, ipotensione, iperazotemia, febbre alta ed una leucocitosi elevata anche con un numero di globuli bianchi superiore a 40000/mm³ (45,46).

Di questi sintomi la diarrea, definita come più di tre evacuazioni giornaliere o come debito colostomico superiore ad un litro/die, inizia alcuni giorni dopo la sospensione di un trattamento con antibiotici (16,27).

Il dolore addominale può essere presente, ma raramente assume un'intensità elevata; quando ciò accade è presumibile l'ipotesi di una perforazione (47).

La febbre, generalmente non elevata, è presente nel 60% dei pazienti (29). Molto rare sono l'evenienza di sangue nelle feci diarroiche e di artropatie (29,48).

La durata dei sintomi nei pazienti non trattati varia da 48 ore a 50 giorni.

La completa scomparsa avviene normalmente in 10-14 giorni dalla sospensione della terapia antibiotica (49).

L'evoluzione sintomatologica è strettamente connessa con il ritardo diagnostico tipico di questa affezione. La mortalità è spesso correlata al mancato inquadramento nosologico di una diarrea o di una leucocitosi persistente, al mancato riconoscimento della malattia, e alla sua progressione verso la FCDC persistente con megacolon, perforazione e morte (43,50).

DIAGNOSI

Non esiste un unico esame in grado di stabilire con certezza assoluta la diagnosi di colite pseudomembranosa.

Una diagnosi di certezza può essere raggiunta solo associando all'accurata valutazione del quadro clinico, i dati laboratoristici ed i reperti istologici (51).

La diagnosi di CP si basa in effetti sulla correlazione dei risultati ottenuti con:

- 1) Esami di laboratorio;
- 2) Studi di imaging;
- 3) Endoscopia + istologia.

1) Esami di laboratorio

-generalmente i pazienti affetti da CP presentano una *leucocitosi* che nei casi più gravi può arrivare anche a 40-50000 WBC/ml.

-*ipoalbuminemia* <3 gr/dl e *iperazotemia*: sono spesso presenti nei pazienti affetti dalle forme più gravi o in progressione verso FCDC.

-*leucocitosi fecale*: se i test risultano positivi (>3-5 leucociti per campo) si esclude l'ipotesi di una diarrea benigna, un test negativo tuttavia non esclude una colite.

-*coltura batterica fecale diretta*: nonostante sia altamente sensibile, è un test che non tutti i laboratori praticano, a causa del fatto che è piuttosto costoso e non distingue i ceppi patogeni (produttori di tossina) da quelli non patogeni.

-*test di identificazione delle tossine fecali*: specie per la tossina B. Questo è il test più sensibile per la ricerca di Cl. difficile nelle feci. Il filtrato fecale è mixato con linee cellulari di mammifero (33) ed è considerato positivo quando le cellule sottoposte a coltura vanno incontro ad un effetto citopatico se messe a contatto con le feci. Questo

test richiede due giorni per la sua esecuzione ed il risultato è confermato dalla neutralizzazione delle tossine con le specifiche antitossine. La sensibilità di questo test raggiunge il 95% nei pazienti con diarrea associata ad antibiotici, e la sensibilità cresce con l'aumentare della severità della colite; tuttavia i risultati sono negativi nel 5-10% dei pazienti con evidenza endoscopica di pseudomembrane (52).

-test immunoenzimatici: ne esistono almeno due: il “rapid enzyme immunoassay” (REI) e l’ “enzyme-linked immunoabsorbent assay” (ELISA) (54).

Il *REI* è un metodo molto rapido utilizzato per la ricerca delle tossine A e B. Sebbene il tempo di esecuzione sia molto rapido (poche ore) e la specificità sia alta (95-100%), bastano quantità talmente minime (da 100 a 1000 pg di tossina A o B) per dare un risultato positivo e abbassare la sensibilità dal 65 all’85% (55).

L’*ELISA* è un test altrettanto rapido che si basa sull’utilizzo di due reagenti: uno per la ricerca della tossina A o B e l’altro per la sola tossina A. L’utilizzo dei reagenti per la sola tossina A può dare qualche problema, visto che l’1-2% di tutti i ceppi di *Cl. difficile* produce solo la tossina B, che pertanto non può essere titolata utilizzando i reagenti specifici per la tossina A (55).

-Latex test: è un test di agglutinazione che non è tuttora raccomandato per la sua bassa sensibilità (58-68%) anche se con specificità del 90-96%. E’ atto ad individuare la glutammato-deidrogenasi, un enzima costituzionalmente espresso da tutti i ceppi di *Cl. difficile* costituendone l’antigene maggiore(56).

-PCR: la “polymerase chain reaction” è una metodica piuttosto costosa ma molto sensibile. E’ usata per la ricerca in laboratorio del gene *tcd A* e *B* che codifica per le tossine di *Cl. difficile* su campioni fecali (57).

2) Studi di immagine:

La diagnostica per immagini può non essere d'aiuto nella diagnosi di colite precoce o lieve. Viceversa può dare un valido contributo nelle forme più avanzate per la ricerca di complicanze quali la perforazione o il megacolon tossico (53).

-*Rx diretta addome*: può mostrare un anomalo pattern delle haustrature coliche ed, seppure in misura minore, anche un edema della mucosa, quadri di ileo paralitico con livelli idroaerei, ma soprattutto ha un ruolo importante nel rivelare precocemente i segni di una perforazione o di un megacolon tossico.

-*Clisma opaco a doppio contrasto*: c'è accordo fra gli Autori nel non utilizzarlo per il suo scarso ruolo nella diagnosi di colite in fase iniziale e per la sua potenziale pericolosità nelle forme più avanzate da aumentato rischio di perforazione.

-*TC*: può essere utile nel rilevare la presenza di edema murale diffuso (con spessore di parete >4 mm) o localizzato, con segni di infiammazione pericolica; tuttavia sono reperti aspecifici.

-*PET*: studi nucleari condotti mediante utilizzo di leucociti marcati con Indio hanno dimostrato un'infiammazione colica aspecifica (52).

3) Endoscopia + istologia

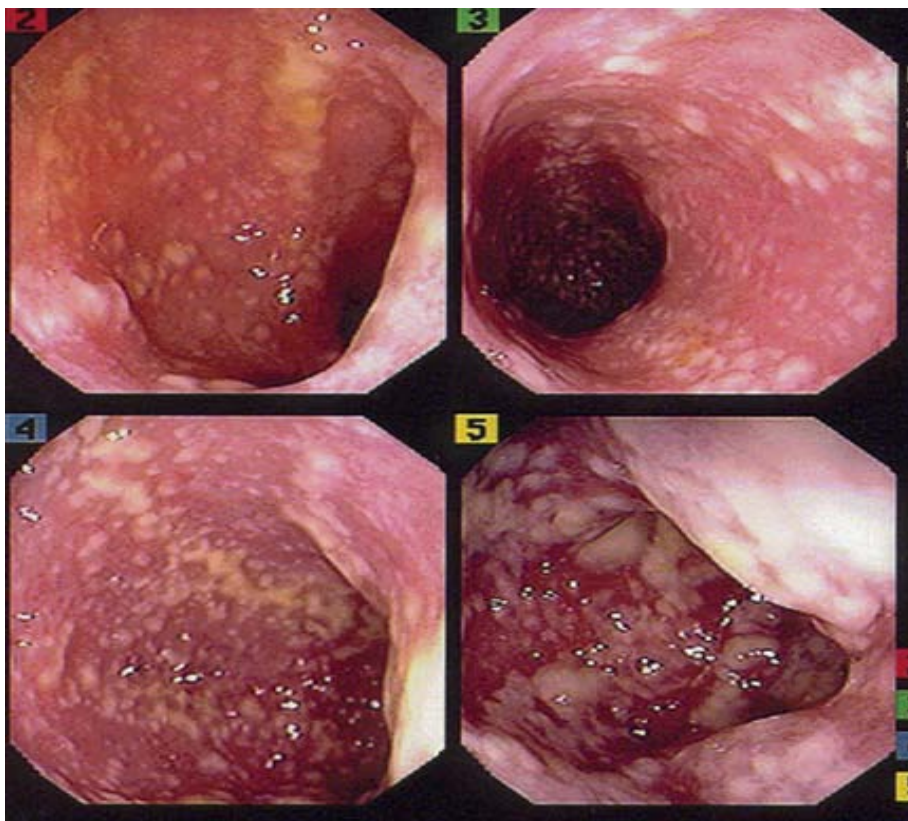
L'esame endoscopico consente di visualizzare le pseudomembrane in più del 50% dei pazienti. La *sigmoidoscopia flessibile* è sufficiente nel 90% dei casi vista la prevalente localizzazione nel colon sinistro; sono pochi i casi (10%) in cui è necessario effettuare una *colonscopia completa* e questo quando la malattia è localizzata nel ceco o nel trasverso e risparmia il retto(49).

Nei casi lievi, le pseudomembrane possono non essere presenti e la diagnosi dovrà essere confermata dalla *biopsia* (29).

L'aspetto endoscopico classico rivela membrane da 2 a 10 mm di diametro costituite da piccole placche biancastre(in genere patognomoniche) aderenti alla mucosa che, nella zona fra le placche, appare relativamente normale. Queste lesioni sono in genere isolate e ben distinte, ma nei casi avanzati tendono a confluire. Le pseudomembrane possono essere rimosse facilmente durante l'endoscopia, rivelando una sottostante mucosa infiammata ed eritematosa. (foto n°1).

Alcuni Autori sostengono che la sigmoidoscopia non debba essere utilizzata routinariamente(52) ma, secondo le linee guida dell'American College of Gastroenterology, è raccomandato il suo utilizzo solo nei casi in cui si necessita di una diagnosi rapida, nella diagnosi differenziale con altre malattie coliche e nei pazienti con ileo.

FOTO n°1



QUADRO ANATOMOPATOLOGICO

Aspetto macroscopico

L'aspetto macroscopico tipico della CP è rappresentato dalla presenza di pseudomembrane che appaiono come noduli e placche biancastre o giallastre talvolta più scure, multiple, rilevate, delle dimensioni variabili da 2 a 5 mm, scarsamente aderenti alla mucosa sottostante che appare a tratti normale e a tratti sede di erosioni superficiali, o con eritemi puntiformi, e con tendenza a confluire nei casi più gravi.

Sono costituite da una zona superficiale, facilmente allontanabile, formata da fibrina e da globuli bianchi, e da zone più profonde in cui prevale la necrosi. Il loro distacco può provocare sanguinamento perchè la pseudomembrana è costituita non solo dalla fibrina, ma anche da lembi necrotici della mucosa che contiene vasi. (foto n°1)

Aspetto microscopico

La biopsia dovrebbe essere praticata preferibilmente alla giunzione tra la mucosa ed una placca.

Microscopicamente il segno più precoce è dato da una necrosi delle cellule dell'epitelio superficiale delle cripte ghiandolari, con infiltrazione neutrofila, accumulo di fibrina nei capillari della lamina propria e ipersecrezione mucosa delle cripte adiacenti; ciò porta alla formazione di ascessi criptici. Con la progressione della malattia, la necrosi e la denudazione mucosa comportano trombosi delle venule della sottomucosa: l'infiammazione della parete colica tende a rimanere superficiale; tuttavia l'esposizione della sottomucosa non protetta al passaggio fecale può comportare una disfunzione della muscolatura colica e sua conseguente dilatazione (52,58).

DIAGNOSI DIFFERENZIALE

La CP entra in diagnosi differenziale con altre patologie, specie quando essa non presenta le caratteristiche endoscopiche tipiche, tenendo presente tuttavia che l'assenza di pseudomembrane non esclude una CDAD (3).

Le patologie con cui la CP deve essere tenuta distinta più frequentemente sono rappresentate da:

-enterocoliti stafilococciche: sono patologie la cui insorgenza risultava più diffusa prima dell'avvento dei nuovi antibiotici i quali hanno favorito la selezione ed il contagio da parte del Cl. difficile.

Attualmente queste entità sono estremamente rare, ma possono comparire in pazienti in trattamento chemioterapico e presentare una clinica del tutto assimilabile ad una CDAD. La diagnosi può essere confermata dall'identificazione di cocchi Gram positivi nelle feci, con risultati negativi ai test di isolamento del Cl. difficile ed in presenza di un coinvolgimento dell'ileo terminale.

-HIV: il virus dell'HIV può provocare un processo infiammatorio colico con caratteristiche simili, che porta ad una atrofia dei villi con sindrome da malassorbimento o ad una sindrome colitica che ricorda la colite ulcerosa (59).

-Morbo di Crohn e RCU: una CP può complicare la storia clinica di pazienti con IBD. Nei casi che presentano una sintomatologia acuta resistente alla terapia, l'isolamento e la terapia per il Cl difficile dovrebbero essere presi in considerazione specie quando vi è un'anamnesi patologica prossima positiva per assunzione di terapia antibiotica.

-coliti da farmaci: da chemioterapici.

-coliti ischemiche: spesso risulta difficile distinguere una CP da una colite ischemica.

Il reperto istologico diagnostico è costituito dalla presenza di polimorfonucleati che infiltrano la lamina propria e formano una membrana.

-altre coliti batteriche e virali: come quelle da *Campylobacter*, *Cl. perfringens*, *Salmonella*, *Shigella*, *E. Coli* e *Yersinia*.

-altre malattie infiammatorie intestinali: come alcune parassitosi ed infezioni da protozoi che determinano quadri dissenterici acuti come quelli da *Entamoeba histolytica* e da *Giardia lamblia* (59).

TRATTAMENTO

Trattamento medico

Le linee guida per il trattamento della CDAD sono state sviluppate e diffuse dalla Society of Healthcare Epidemiology of America, dall'American College of Gastroenterologists(ACG) e dall'American Society of Health-System Pharmacists (60,61,62).

Nei casi lievi o moderati le linee guida prevedono un trattamento basato sulla sola terapia di supporto che consiste nella sospensione dell'antibiotico eventualmente considerato responsabile, evitando gli agenti anti-diarroici e gli oppioidi, ma ripristinando l'equilibrio idro-elettrolitico ed assicurandosi un buon isolamento del paziente per evitare il contagio. Sarà opportuno procedere, quando possibile, all'isolamento del germe per identificare l'antibiotico più adeguato (61).

Il trattamento empirico con *metronidazolo* è stato sostenuto dall'ACG nei pazienti con patologia di grado severo fino a che la diagnosi di CDAD non venga definitivamente confermata.

L'uso del metronidazolo somministrato per os è raccomandato come trattamento di prima scelta con regimi di 500 mg per 3 volte al giorno o 250 mg per 4 volte al dì per 10 giorni (60,61,62). Il metronidazolo è un farmaco poco costoso ma molto efficace, con una risposta variabile dall'86% al 92% nella somministrazione orale negli adulti; è comunque sconsigliabile il suo utilizzo nei bambini e nelle donne in gravidanza (52).

Alternativamente può essere utilizzata la *vancomicina*. Secondo alcuni studi la vancomicina è il farmaco più affidabile nel trattamento della CDAD, con una risposta al trattamento variabile dal 90 al 100%, sebbene debba essere presa in

considerazione la più alta probabilità di recidiva di malattia e la possibilità di sviluppare resistenza (52). Si calcola che la recidiva possa interessare il 10-25% dei pazienti (2), e in uno studio è risultato che pazienti con uno o più episodi di recidiva avessero una probabilità di svilupparne un'altra del 65% (30).

La vancomicina viene somministrata per os alla dose di 125 mg per 4 volte al giorno per 10 giorni (62).

Secondo l'ACG l'uso della vancomicina deve essere riservato a casi particolarmente severi o complicati da megacolon tossico o perforazione colica, ed in particolare quando c'è evidenza di una scarsa risposta al trattamento con metronidazolo dopo 3-4 giorni; quando è presente una resistenza del microorganismo al metronidazolo (63); nei pazienti che presentano intolleranza al metronidazolo; nei pazienti con età inferiore ai 10 anni o in donne in gravidanza.

Una review della Cochrane sul trattamento della CDAD ha stabilito che il metronidazolo, la vancomicina ed altri antibiotici come la *bacitracina* (500 mg per os per 4 volte/die per 7-19 giorni), la *teicoplanina* (100 mg per 2 volte/die), l'*acido fusidico* e la *rifaximina* (200 mg per 3 volte/die per 10 giorni) sono ugualmente efficaci nel trattamento iniziale di un'infezione da Cl.difficile.

Il metronidazolo e la vancomicina tuttavia rimangono attualmente gli antibiotici di prima scelta, sebbene questi altri agenti potranno rappresentare delle valide opzioni terapeutiche se confermate da studi futuri (53,64).

Se possibile, l'uso degli antibiotici dovrebbe essere evitato per almeno due mesi dopo la risoluzione della CDAD. Le prime recidive dovrebbero essere trattate con gli stessi farmaci utilizzati durante il primo trattamento (60,61,62).

I regimi terapeutici dovranno prevedere, inoltre, l'utilizzo di:

-probiotici: specie nei pazienti con recidive multiple. Essi inoltre possono ridurre al minimo il rischio di CDAD dopo trattamento antibiotico (65). Fra questi due in

particolare: il *Saccaromyces boulardii* (alla dose di 2 cp da 500 mg/die per 4 settimane), che ha la capacità di colonizzare rapidamente il colon senza alterare la flora batterica preesistente. Sembrerebbe inoltre capace di produrre alcune proteasi in grado di distruggere i siti recettoriali delle tossine A e B del *Cl.difficile*; il *Lactobacillus*, molte specie del quale costituiscono la quasi totalità della normale flora batterica colica. Alcuni studi hanno dimostrato un'efficacia superiore al 50% nella riduzione dell'incidenza della CDAD quando usato in profilassi all'inizio della terapia antibiotica (66).

Due ceppi di lactobacilli, in particolare, il *Lactobacillus paracasei* ed il *L. plantarum* avrebbero addirittura mostrato una efficacia in vitro contro alcuni ceppi patogeni di *Cl. difficile* (67).

-Resine a scambio anionico: la *colestiramina* ed il *colestipol* usate nel trattamento dell'ipercolesterolemia hanno dimostrato efficacia nel legare le tossine (soprattutto la B) del *Cl. difficile* nel lume colico, favorendone l'eliminazione. La dose raccomandata è di 4 gr per 4 volte /die. Dovrebbero essere utilizzate nelle forme lievi o nelle recidive, anche se danno una risposta variabile e spesso bassa a causa della loro significativa interazione con altri farmaci, incluso il legame e la possibile inattivazione della vancomicina (54,68).

Altri trattamenti alternativi sono considerati:

-Corticosteroidi: utili in qualche caso, ma non raccomandati;

-Nitazoxamide: 500 mg 2 volte/die per 10 giorni. E' efficace contro parassiti e patogeni enterici, ma ancora oggetto di studi di fase III. Minime interazioni con il warfarin (69).

-Intravenous Immunoglobulin (IVIG): si basa sull'ipotesi di una associazione fra una risposta sistemica alla presenza di tossina A e sviluppo di CDAD. Fra i pazienti infetti da *Cl. difficile*, i pazienti asintomatici pare abbiano incrementati i livelli

sierici di IgG anti-tossina A molto di più dei pazienti che sviluppano CDAD. Il meccanismo è sconosciuto, ma la somministrazione di Ig non ha ancora avuto l'approvazione della FDA (39).

-Vancomicina intra-colon: sono stati trattati con successo pazienti con CDAD di grado severo tramite somministrazione intra-colica di vancomicina, spesso associata al metronidazolo per os o ev o alla vancomicina per os (70).

Trattamento chirurgico

Il trattamento chirurgico è generalmente indicato in tutti i pazienti le cui condizioni sono complicate da un megacolon tossico con possibile evoluzione verso la perforazione o nei casi di perforazione colica già in atto (53).

Due terzi dei pazienti con megacolon tossico richiedono un intervento chirurgico (54).

La frequenza di intervento chirurgico è bassa, attestandosi sullo 0.39-3.6% di tutti i casi di CDAD (53).

La mortalità dei pazienti sottoposti ad intervento chirurgico si attesta tra il 35% e l'80% (1,71).

Le opzioni chirurgiche utilizzate sono rappresentate da:

-resezione colica segmentaria con ileostomia: rappresentava il trattamento di scelta in passato prima che vi fosse la possibilità di un opportuno trattamento antibiotico.

-confezionamento di colostomia o ileostomia: questo trattamento viene usato raramente. Se da un lato esso consente l'istillazione diretta intra-luminale dell'antibiotico in pazienti che presentano ileo paralitico, dall'altro è stato riportato comunque che la stessa CP può essere causa di disfunzione precoce della colostomia,

e in caso di coinvolgimento ileale, può rappresentare una complicanza dell'ileostomia.

-colectomia subtotale precoce: è attualmente utilizzato come trattamento di scelta nei casi di colite tossica fulminante, che non hanno risposto ad un trattamento medico di almeno una settimana, come trattamento salvavita nei casi di megacolon tossico o perforazione del ceco(73). Molti studi recenti hanno enfatizzato l'importanza di un intervento precoce quando indicato, cioè prima di un coinvolgimento tossico multiorgano (MOF) ed in presenza di acidosi con lattati superiori a 4 (1,54).

L'esperienza nella gestione chirurgica della colite da Cl. difficile è ancora limitata. I risultati degli interventi di colectomia sono spesso discordanti fra loro, tuttavia il tipo di intervento sembra condizionare l'outcome del paziente (1,72).

-Colectomia totale: ha la più bassa incidenza di mortalità nel trattamento della FCDC confrontata a quella di resezioni più limitate, come l'emicolectomia sinistra, l'emicolectomia destra, l'emicolectomia destra e sinistra con risparmio del sigma-retto(74).

La mortalità post-operatoria di questi pazienti sorraggiunge in genere per MOF: pertanto una precoce valutazione chirurgica, una gestione congiunta medico-chirurgica del paziente ed un tempestivo timing chirurgico, prima dell'insorgenza di un'insufficienza multiorgano, può migliorare la sopravvivenza dei pazienti affetti dalla FCDC.

Nel momento in cui viene posta indicazione al trattamento chirurgico, *la colectomia totale con confezionamento di ileostomia* può rappresentare la procedura salvavita di scelta, sebbene la mortalità associata debba essere sempre considerata (1,75).

PROSPETTIVE FUTURE

Fra le prospettive future sono da annoverare alcuni trattamenti ancora oggetto di studio:

-*ramoplanina*: un glicolipodepsipeptide che presenta efficacia paragonabile alla vancomicina. Essendo poco assorbito è dunque disponibile nel lume intestinale; è stata dimostrata un'efficacia del 90% (rispetto allo 0% dei pazienti a cui era stato somministrato il placebo) nell'eradicazione degli enterococchi resistenti alla vancomicina (74).

-*PAR 101 (OPT-80, tacumicinB)*: un nuovo macrocycle, non assorbibile, con attività mirata contro Cl. difficile rispetto ad altri enterococchi. (52,75)

-*gammaglobuline bovine iperimmuni*.

-immunizzazione ottenuta attraverso *tossoidi* ricavati dalla tossina A e B del Cl. difficile (76).

-*anticorpi monoclonali* diretti contro le tossine A e B (77).

Oltre a ciò merita un cenno il tentativo di sviluppo di un *vaccino* diretto verso alcune proteine bersaglio del *Clostridium difficile*. Queste proteine sono costituzionalmente espresse dal microorganismo e sono in grado di determinare una risposta immunitaria se iniettati nell'ospite, stimolando probabilmente la produzione di antitossine A e B di tipo IgG.

Sebbene i meccanismi siano ancora sconosciuti, lo sviluppo di un vaccino contro il Cl. difficile potrebbe fornire una soluzione permanente della probabilità di infezione attraverso un potenziamento della risposta immunitaria (76,78).

BIBLIOGRAFIA

- 1) Koss K, Clark MA, Sanders DSA, Morton D, Keighley MRB, Goh J. the outcome of surgery in fulminant Clostridium Difficile colitis. Colorectal disease 2005;(8):149-54
- 2) Kelly CP, Pothoulakis C, La Mont JT. Clostridium Difficile colitis. N Engl J Med. 1994;330:257-62
- 3) Kuipers E, Surawicz M. Clostridium Difficile infection. The Lancet. 2008;371:1486-88
- 4) Rolfe RD, Finegold SM. Purification and characterization of Clostridium Difficile toxin. Infect Immun.1979;25:191-210
- 5) Rolfe RD, Finegold SM. Inhibitory interactions between normal faecal flora and Clostridium Difficile. Am J Clin Nutr 1980;33:2539
- 6) Taylor NS, Thorne GM, Bartlett JG. Separation of an enterotoxin from the cytotoxin of Clostridium Difficile. Clin Res 1980;28:265 A
- 7) Taylor NS, Bartlett JG. Partial purification and characterization of a cytotoxin from Clostridium Difficile. Rev Infect Dis 1979;1:379-385
- 8) Kujper EJ, van Dissel JT, Wilcox MH. Clostridium Difficile: Changing epidemiology and new treatment options. Curr Opin Infect Dis 2007;20:376-83
- 9) Rosenberg JM, Walker M, Welch JP, Mullany L. Clostridium Difficile colitis in surgical patients. Am J Surg 1984;147:486-91
- 10) Pithie AD, Ellis CS. Review article: antibiotics and the gut. Aliment Pharmacol Ther 1989;3:321-32
- 11) PeikinSR, Gladibini J, Bartlett JG. Role of Clostridium Difficile in a case of non antibiotic associated Pseudomembranous Colitis. Gastroenterology 1980;79:948-51
- 12) Scott AJ, Nicholson GI, Kerr ARR. Lincomycin as a cause of Pseudomembranous Colitis. The Lancet 1973;1232-34
- 13) Rogers TR, Petron M, Lucas C. Spread of Clostridium Difficile among patients receiving non absorbable antibiotics for gut decontamination. Br Med J 1981;283:409-10
- 14) Bartlett JG, Gorbach SL. Pseudomembranous enterocolitis(antibiotics related colitis). Adv Intern Med 1977;22:455-76
- 15) Flegel W, Muller F, Daubener W et al. Cytokine response by Human monocytes to Clostridium Difficile toxin A and toxin B. Infect Immun 1991; 59:3659-66
- 16) Hurley BW, Nguyen CC. The spectrum of Pseudomembranous enterocolitis and antibiotic associated diarrhea. Arch Int Med 2002;162:2177-84
- 17) Ambrose NS, Johnson M, Burdon DW, Keighley MRB. Influence of single dose intravenous antibiotics on faecal flora and emergence of Clostridium Difficile. J Antimicrob Chemother 1985;15:319-26
- 18) Hall IC, O'Toole E. Intestinal flora in newborn infants. Am J Dis Child 1935;49:390-402
- 19) SnyderHI. The normal faecal flora in infants between two weeks and one year of age. J Infect Dis 1940;66:1-16
- 20) George WL, Sutter VL, Citron D, Finegold SM. Selective and differential medium for isolation of Clostridium Difficile. J Clin Microbiol 1979;9:214-19
- 21) Mulligan ME, Rolfe RD, Finegold SM, George WL. Contamination of a Hospital environment by Clostridium Difficile. Curr Microbiol 1979;3:173-5
- 22) Mulligan ME, GeorgeWL, RolfeRD, FinegoldSM. Epidemiological aspects of Clostridium Difficile induced diarrhea and colitis. Am J Clin Nutr 1980;33:2533-38
- 23) Lishman AH, Al-Jumaili IJ, Record CO. Antitoxin production in antibiotic associated colitis. J Clin Pathol 1981 Apr 34(4):414-15
- 24) Metz DC. Clostridium Difficile colitis: wash your hands before stopping the proton pump inhibitors. Am J Gastroenterol 2008 Sep;103(9):2314-16
- 25) Nolan NPM, KellyCP, Humphreys JFH et al. An epidemic of Pseudomembranous colitis: importance of person to person spread. Gut 1987;28:1467-73
- 26) Greenfield C, Burroughs A, Szawathowski M, Bass N et al. Is pseudomembranous colitis an infectious disease? Lancet 1981 371-72
- 27) Keighley MRB, Williams NS. Chirurgia ano-retto e colon. PICIN 2000 Nuova libreria S.p.A. Padova
- 28) Pettet JD, Baggenstos AH, Dearing WH, Judd ES. Post-operative pseudomembranous enterocolitis. Surg Gynecol Obstet 1954;98:546-52
- 29) Mogg GAG, Keighley MRB, Burdon DW et al. Antibiotic associated colitis. A review of 66 cases. Br J Surg 1979;68:194
- 30) Surawicz CM, McFarland LV. Pseudomembranous colitis: causes and cures. Digestion 1999;60:91-100
- 31) Weber P, Koch M, Heizmann WR, Scheurlen M, Jenss H, Hartmann F. Microbic superinfection in relapse of inflammatory bowel disease. J Clin Gastroenterol 1992;14:302-08
- 32) Garcia-Osogobio S, Takahashi T, Gamboa-Dominguez A et al. Toxic pseudomembranous colitis in a patient with ulcerative colitis. Inflamm Bowel Dis 2000;6:188-90
- 33) Rolny P, Janerot G, Molby R. Occurrence of Clostridium Difficile toxin in inflammatory bowel disease. Scand J Gastroenterol 1983;18:61-4
- 34) Wang A, Takeshima F, Ikeda M et al. Ulcerative colitis complicating pseudomembranous colitis of the right colon. J Gastroenterol 2002;37:309-312
- 35) Vilalta Castel E, Alcazar Montero MS, Navarro Gaspar C et al. Role of Clostridium Difficile infection in the relapse of ulcerative colitis. Ann Med Interna 2002;19:637-39
- 36) Greenfield C, Aquilar Ramirez JR, Pounder RE et al. Clostridium Difficile and inflammatory bowel disease. Gut 1983;24:713-17
- 37) Brown E, Talbot GH, Axelrod P et al. Risk factors for Clostridium Difficile toxin associated diarrhea. Infect Control Hosp Epidemiol 1991;11:283-90
- 38) Johnson S, Gerding DN. Clostridium Difficile associated diarrhea. Clin Infect Dis 1998;26:1027-34

- 39) Kyne L, Warny M, Quamar A, Kelly CP. Asymptomatic carriage of Clostridium Difficile and serum levels of IgG antibody against toxin A. *N Engl J Med* 2000;342:390-97
- 40) Yassin SF, Young-Fadok TM, Zein NN, Pardi DS. Clostridium Difficile associated diarrhea and colitis. *Mayo Clin Proc* 2001;76:725-30
- 41) McFarland MV, Mulligan ME, Kwok RY, Stamm WE. Nosocomial acquisition of Clostridium Difficile infection. *N Engl J Med* 1989;320:204-10
- 42) Kelly CP, LaMont JT. Clostridium Difficile infection. *Annu Rev Med* 1998;49:375-90
- 43) Longo WE, Mazuski JE, Virgo KS, Lee P, Bahadursingh AN, Johnson FE. Outcome after colectomy for Clostridium Difficile colitis. *Dis Colon Rectum* 2004;47:1620-6
- 44) Rubin MS, Bodenstern LE, Kent KC. Severe Clostridium Difficile colitis. *Dis Colon Rectum*. 1995;38:350-4
- 45) Greenstein A et al. Risk factors for development of fulminant Clostridium Difficile colitis. *Surgery* 2008;143:623-9
- 46) Fekety R, Shah AB. Diagnosis and treatment of Clostridium Difficile colitis. *JAMA* 1993;269:71-5
- 47) Triadafilopoulos G, Hallstone AE. Acute abdomen as the first presentation of pseudomembranous colitis. *Gastroenterology* 1991;101:685-91
- 48) Talbot RW, Walker RC, Beart RW Jr. Changing epidemiology, diagnosis and treatment of Clostridium Difficile toxin associated colitis. *Br J Surg* 1986;73:457-60
- 49) Tedesco FJ. Clindamycin associated colitis: review of the clinical spectrum of 47 cases. *Am J Dig Dis* 1976;21:26-32
- 50) Wanahita A, Goldsmith EA, Marino BJ, Musher DM. Clostridium Difficile infection in patients with unexplained leukocytosis. *Am J Med* 2003;115:543-46
- 51) Lewis R. Investigation of Clostridium Difficile diarrhea in a district general hospital: room for improvement. *J Hosp Infect* 1987 Nov;10(3):243-7
- 52) Yassin SF. Pseudomembranous colitis: surgical perspectives. *The Medscape Journal*. 21 Nov 2007
- 53) Curry J. Pseudomembranous colitis. *The Medscape Journal*. 20 Jul 2007
- 54) Halsey J. Current and future treatment modalities for Clostridium Difficile associated disease. *Am J Health Syst Pharm*. 2008; 65(8): 705-715
- 55) Laughan BE, Viscidi RP, Gdovin SL et al. Enzyme immunoassays for detection of Clostridium Difficile toxins A and B in faecal specimens. *J Infect Dis* 1984;149:781-8
- 56) Freeman J, Wilcox MH. The effects of storage conditions on viability of Clostridium Difficile vegetative cells and spores and toxins activity in human faeces. *J Clin Pathol* 2003;56:126-8
- 57) Zheng L, Keller SF, Lyerly DM, Carman RJ et al. Multicenter evaluation of a new screening test that detects Clostridium Difficile in faecal specimens. *J Clin Microbiol* 2004 Aug;42(8):3837-40
- 58) Price AB, Davies Dr. Pseudomembranous colitis. *J Clin Pathol*. 1977;30:1-12
- 59) Robbins. Le basi patologiche delle malattie. PICCIN 2000 Nuova Libreria S.p.A.
- 60) Gerding DN, Johnson S, Peterson LR et al. Clostridium Difficile associated diarrhea and colitis. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1995;16:459-77
- 61) Fekety R. Guidelines for the diagnosis and management of Clostridium Difficile associated diarrhea and colitis. *Am J Gastroenterol* 1997;92:739-50
- 62) American Society of Health System Pharmacists. ASHP therapeutic position statement on the preferential use metronidazole for the treatment of Clostridium Difficile associated disease. *Am J Health Syst Pharm*. 1998
- 63) Johnson S, Sanchez JL, Gerding DN. Metronidazole resistance in Clostridium Difficile. *Clin Infect Dis*. 2000 Aug 31(2):625-6
- 64) Antibiotic treatment for Clostridium Difficile associated diarrhea in adults. *Cochrane Database Syst Rev*;2005 Jan 25
- 65) D'Souza AL, Rajkumar C, Cooke J, Bulpitt CJ. Probiotics in prevention of antibiotics associated diarrhea: meta analysis. *BMJ*. 2002 Jun 8;324(7350):1361
- 66) Plummer S, Weaver MA et al. Clostridium Difficile pilot study: effects of probiotic supplementation on the incidence of Clostridium Difficile diarrhea. *Int Microbiol* 2004 Mar;7(1):59-62
- 67) Naaber P, Smidt I et al. Inhibition of Clostridium Difficile strains by intestinal Lactobacillus species. *J Med Microbiol*. 2004;53:551-4
- 68) Taylor NS, Bartlett JG. Binding of Clostridium Difficile cytotoxin and vancomycin by anion exchange resins. *J Infect Dis*. 1980;141:92-7
- 69) Musher DM, Logan N, Hamill RJ et al. Nitazoxanide for the treatment of Clostridium Difficile colitis. *Clin Infect Dis*. 2006 Aug 15;43(4):421-7
- 70) Bublin JG, Barton TL. The rectal use of Vancomycin. *Ann Pharmacother*. 1994;28:1357
- 71) Synnott K, Mealy K, Merry C, Kyne L et al. Timing of surgery for fulminating Pseudomembranous colitis. *Br J Surg* 1998;85:229-31
- 72) Lipsett PA, Samantaray DK, Tam ML et al. Pseudomembranous colitis: a surgical disease? *Surgery*. 1994; 116:491-6.
- 73) Jaber MR, Olafsson S, Fung WL, Reeves MC. Clinical Review Of the management of fulminant Clostridium Difficile infection. *Am J Gastroenterol* 2008;103:1-9
- 74) Pulmann J, Prieto J, Leach TS. Ramoplanin vs Vancomycin in the treatment of Clostridium Difficile diarrhea: a phase 2 study, poster presented at the 44th ICAAC, an annual meeting of the American Society for Microbiology, October 2004
- 75) Credito KL, Appelbaum PC. Activity of OPT-80, a novel macrocycle, compared with those of eight other agents against selected anaerobic species. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004 Nov; 48(11):4430-4
- 76) Aboudola S, Kotloff KL et al. Clostridium Difficile vaccine and serum immunoglobulin G antibody response to toxin A. *Infect Immun*. 2003 Mar; 71(3):1608-10

- 77) Babcock GJ et al. Human monoclonal antibodies directed against toxin A and B prevent Clostridium Difficile induced mortality in hamsters. *Infect Immun* 2006 Nov;74(11):6339-47
- 78) Kotloff KL, Wassermann SS et al. Safety and immunogenicity of increasing doses of Clostridium Difficile toxoid vaccine administered to healthy adults. *Infect Immun* 2001; 69:988-95
- 79) Clausen MR, Bonnen H, Tvede M, Mortensen PB: Colonic fermentation short chain fatty acids is decreased in antibiotic associated diarrhea. *Gastroenterol* 1991 Dec;101(6):1447-504
- 80) McDonald LC, Owings M, Jernigan DB. Clostridium difficile infection in patients discharged from US short-stay hospitals, 1996-2003. *Emerg Infect Dis.* 2006 Mar;12(3):409-15