

***Clostridium difficile*: penyebab diare dan kolitis pseudomembranosa, akibat konsumsi antibiotika yang irasional**

Widyasari Kumala

Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti

ABSTRAK

Clostridium difficile adalah mikroorganisme oportunistik, positif Gram dan anaerob obligat. Kini kuman ini terbukti sebagai penyebab terbesar penyakit kolitis pseudomembranosa (*pseudomembranous colitis*/PMC) dan diare (*antibiotic associated diarrhea* /AAD) sebagai dampak negatif dari konsumsi antibiotika yang tidak rasional dalam hal penanggulangan infeksi. Kuman *C. difficile* baik yang toksigenik maupun yang non toksigenik merupakan flora normal dalam saluran pencernaan neonatus dan anak-anak. Penularan mikroorganisme ini melalui spora kuman dan organisme sendiri yang tertelan bersama makanan atau melalui infeksi nosokomial. Prevalensi infeksi kuman ini pada penderita PMC sangat tinggi sekitar 99% dan pada AAD sekitar 20-25%. Diagnosis laboratorium dapat dilakukan dengan pemeriksaan mikrobiologik, uji serologik dan uji sitotoksitas. Biaya pemeriksaan dan pengobatan pada seorang penderita AAD maupun PMC sangat tinggi, sehingga perlu memperhatikan lamanya pemakaian antibiotika dan besarnya dosis yang diberikan kepada penderita penyakit infeksi.

Kata kunci : *Clostridium difficile*, kolitis pseudomembranosa, antibiotika, diare

Clostridium difficile: a cause of pseudomembranous colitis and diarrhea due to using irrational antibiotic

ABSTRACT

Clostridium difficile is an opportunistic, Gram positive and obligately anaerob microorganism. It is proven to be the mayor cause of pseudomembranous colitis (PMC) and antibiotic associated diarrhea (AAD) as the negative effect of irrational antibiotic use against infection. *Clostridium difficile* either toxigenic or nontoxigenic is normal flora in the digestive system of neonatus and children. This microorganism can spread in the form of spores or in its original form through food ingestion and nosocomial infection. The prevalence of infection in PMC patients is very high, approximately 99%. The prevalence in AAD is 20-25%. Diagnosis using laboratory tests can be done by microbiology examination, serologic and cytotoxicity tests. The diagnostic approach and therapy for PMC or AAD are usually costly. Therefore, there should be more attention in determining the length in using antibiotics, as well as the doses, when dealing with infected patients.

Keywords: *Clostridium difficile*, pseudomembranous colitis, antibiotic associated diarrhea

PENDAHULUAN

Pada pertengahan tahun 1930 Hall dan O'Tooole berhasil mengisolasi bakteri *Clostridium difficile*, dan selang 40 tahun kemudian kuman ini baru berhasil diidentifikasi sebagai penyebab terbesar penyakit kolitis pseudomembranosa (*pseudomembranous colitis*/PMC) dan diare

(*antibiotic associated diarrhea*/AAD) pada manusia, meskipun sebenarnya penyakit PMC dan AAD sudah dikenal sejak tahun 1893.^(1,2)

Akhir-akhir ini terjadi peningkatan infeksi kuman anaerob khususnya kuman *C. difficile* yang menjadi penyebab terbesar diare nosokomial di

rumah sakit. Keadaan ini disebabkan semakin meluasnya pemakaian antibiotika yang tidak rasional. Jenis antibiotika yang dapat menyebabkan penyakit PMC dan AAD antara lain antibiotika klindamisin, penisilin, sefalosporin, tetrasiklin, ampisilin, dan siprofloksasin.^(3,4)

Kuman *C. difficile* dikenal sebagai salah satu flora normal dalam saluran pencernaan manusia serta pada beberapa hewan mamalia seperti onta, anjing laut dan kuda. Tetapi tidak semua kuman *C. difficile* dapat menyebabkan penyakit PMC dan AAD. Hanya *C. difficile* yang menghasilkan toksin A dan toksin B memegang peranan penting terjadinya penyakit PMC dan AAD.^(2,5)

EPIDEMIOLOGI

Prevalensi kolonisasi kuman *C. difficile* pada manusia sangat tergantung dengan umur seseorang. Menurut Rietra dan kawan-kawan frekuensi tertinggi ditemukan pada bayi usia di bawah 5 bulan yaitu sekitar 14%. Pada kelompok bayi usia 6 sampai 11 bulan sekitar 4%, pada kelompok usia 12 sampai 23 bulan 2,1% dan pada kelompok usia 2 sampai 15 tahun sekitar 0,7%.⁽⁶⁾ Infeksi kuman *C. difficile* juga sering diderita dewasa muda dan penderita yang lemah, wanita, penderita karsinoma, penderita luka bakar dan pasca bedah abdomen yang dirawat dalam ruang gawat darurat.⁽⁷⁾

Pada penderita yang dirawat di rumah sakit, prevalensi kolonisasi *C. difficile* sekitar 10-30% dan pada neonatus sekitar 60-78%. Sedangkan pada neonatus dengan AAD asimtomatik dijumpai kolonisasi *C. difficile* positif sebanyak 71%.⁽⁸⁾

Insiden AAC pada orang dewasa yang diberikan pengobatan klindamisin berkisar antara 1 berbanding 10.000. Menurut laporan kasus penderita PMC dan AAD, penyebab terbanyak adalah kuman *C. difficile* yaitu sekitar 20-25% dan sekitar 15% penderita diare nosokomial disebabkan kuman *C. difficile*.⁽⁸⁾

SUMBER PENULARAN

Penularan terjadi melalui makanan yang terkontaminasi kuman *C. difficile* atau dengan spora kuman. Di samping itu dapat ditularkan melalui

karier yaitu bayi, tangan perawat di rumah sakit dan penderita yang terinfeksi kuman ini. Di samping itu kuman *C. difficile* dapat disolasi dari lantai kamar perawatan serta baju perawat dan alat-alat kedokteran yang berada dalam ruang penyimpanan di rumah sakit. Menurut Mc Farland dan kawan-kawan penularan yang tertinggi adalah melalui penderita ke penderita lainnya.⁽⁹⁾ Spora kuman ini dapat bertahan dalam waktu yang lama di lingkungan, keadaan ini juga mempermudah penularan infeksi.

Mikrobiologi

Bakteri ini termasuk kuman oportunistik, batang berspora, positif Gram, bersifat anaerob obligat dan sebagian besar merupakan flora normal disaluran pencernaan manusia. Untuk mengisolasi kuman ini dapat dipakai perbenihan selektif antara lain *cycloserin cefoxitine difructose agar* (CCFA). Pemberian sodium taurocholate sebanyak 0,2% pada perbenihan CCFA akan meningkatkan kemampuan mendeteksi jumlah spora yang sangat sulit. Pertumbuhan yang baik pada suhu 37°C dengan masa inkubasi selama 48 jam sampai 72 jam. Pada perbenihan padat koloni kuman berbentuk bulat datar, diameter 2-3 mm dan berwarna kuning dengan bau yang khas.⁽¹⁰⁾ Sifat lainnya adalah tidak menyebabkan hemolisis darah merah, meragi manitol dan glukosa tetapi tidak meragi maltosa, laktosa, sukrosa dan tidak membentuk indol maupun H₂S.

Produksi toksin

Seperti diketahui kuman *C. difficile* terdiri dari galur yang toksigenik dan yang non-toksigenik. *C. difficile* yang toksigenik dapat menghasilkan toksin A (enterotoksin) dan toksin B (*cytotoxin*). Toksin A terdiri dari protein dengan berat molekul sekitar 400.000-600.000, dan mempunyai sifat enterotoksik yang dapat mengikat sel pada membran *brush border*. Akibat perlekatan ini terjadi erosi pada mukosa usus dan merangsang pengeluaran cairan dari usus, selain itu toksin ini juga dapat menyebabkan perdarahan.⁽¹¹⁾

Pada uji *ligated ileal loop* yang menggunakan binatang percobaan kelinci atau domba, membuktikan bahwa toksin A *C. difficile* mirip

dengan toksin kolera yang dapat merangsang sekresi cairan di usus. Tetapi terdapat perbedaan yang mencolok antara toksin *C. difficile* dengan toksin kolera yaitu toksin kolera tidak merusak mukosa usus, sedangkan toksin A dari *C. difficile* dapat merusak jaringan mukosa usus yang luas.⁽¹²⁾

Toksin B dengan berat molekul sekitar 360.000-500.000 terbukti tidak aktif di usus, tetapi mempunyai kekuatan sitotoksin 1000 kali lebih kuat dibandingkan toksin A.⁽¹²⁾ Toksin A dan B, mempunyai sifat yang sama yaitu labil terhadap suhu tinggi. Aktifitas toksin A dan toksin B akan menurun, bila dipanasi dengan suhu 60°C selama 10 menit. Cara lain untuk membuat tidak aktif kedua toksin ini yaitu dengan menggunakan enzim pronase.⁽¹¹⁾

Patogenesis

Penggunaan antibiotika sebagai profilaksis terhadap infeksi ringan maupun sebagai pengobatan dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan pembelahan spora *C. difficile* yang mengakibatkan pertumbuhan kuman dan toksin meningkat. Pada keadaan normal jumlah toksin yang dihasilkan hanya sedikit dan dapat dinetralisir oleh kuman aerob lain yang berada dalam usus. Kemungkinan lain meningkatnya jumlah bakteri *C. difficile* disebabkan faktor resistennya kuman ini terhadap antimikroba. Di samping itu pemberian antibiotika secara suntikan intramuskular maupun intravena dan secara topikal dapat menyebabkan PMC atau AAD.⁽²⁾

Dahulu diduga hanya antibiotika klindamisin saja yang dapat menyebabkan PMC atau AAD, tetapi saat ini telah terbukti sejumlah antibiotika lain seperti penisilin G, ampisilin, amoksisilin, karbenisilin, tetrasiklin, golongan sefalosporin, siprofloksasin, linkomisin, kloramfenikol, eritromisin, dan golongan trimetropim dapat menyebabkan PMC atau AAD.⁽¹³⁾

Tidak selalu pemberian antibiotika menyebabkan PMC atau AAC, masih terdapat faktor lain seperti komponen dari flora normal di usus yaitu kuman *Escherichia coli*, *Enterococcus*, *Lactobacilli*, *Bacteriodes* dan *Clostridial* spp yang dapat menekan koloni pertumbuhan *C. difficile*.⁽³⁾

Beberapa penelitian membuktikan bahwa PMC dapat terjadi tanpa pemberian antibiotika. Diduga perubahan diet, anestesia, uremia dan pengaruh bahan kimia seperti methrotexate, garam Inggris dapat memicu terjadinya penyakit ini.^(2,3)

MANIFESTASI KLINIK

Umumnya diare timbul sekitar 5 sampai 10 hari setelah pemberian antibiotika secara oral, intra vena dan intra muskuler. Gejala diare dari ringan sampai berat berupa diare bercampur darah dan lendir. Gejala lainnya yaitu demam yang dapat mencapai 38°C, kejang perut dan leukositosis. Gejala klinis dan gambaran patologi penyakit yang disebabkan organisme ini sulit dibedakan dengan penyakit saluran pencernaan lainnya seperti *Crohn's disease*, kolitis ulserativa dan inflamasi kronik usus.^(3,5) Pada kasus yang tidak mendapat penanganan yang baik dapat terjadi perforasi usus dan membawa kematian. Kelainan patologi terutama terjadi di bagian lapisan epitel dan lamina propria superfisial kolon terutama daerah rektosigmoid berupa pseudomembran.

Pada pemberian antibiotika akan menyebabkan terjadinya ketidak seimbangan antara flora normal usus: yaitu matinya kuman kuman seperti *E coli*, *Enterococcus*, *Bacteriodes*, *Lactobacillus* dan *Clostridium* spp. Sedangkan *C. difficile* akan tumbuh secara berlebihan, sehingga jumlah toksin yang dihasilkan juga akan meningkat. Keadaan seperti ini akan menimbulkan gangguan yang dikenal sebagai AAD dan PMC. Dalam keadaan normal kuman *C. difficile* juga menghasilkan toksin tetapi dalam jumlah yang sangat sedikit sehingga dapat dinetralisir oleh kuman aerob flora normal yang berada di usus. Pada keadaan tertentu, di mana penderita mendapatkan pengobatan antibiotika dalam jangka waktu lama dan dosis tinggi dapat mengakibatkan flora normal di usus banyak yang mati, sehingga kuman yang resisten terhadap antibiotika dapat tumbuh dan berkembang biak dengan cepat. Peningkatan jumlah kuman *C. difficile* yang berlebihan ini juga dapat disebabkan spora kuman ini yang resisten terhadap antibiotika pada suatu saat akan tumbuh menjadi sel vegetatif.⁽²⁾

DIAGNOSIS LABORATORIUM

Bahan pemeriksaan berupa tinja atau usap dubur. Bila dalam keadaan tertentu bahan pemeriksaan tidak dapat segera diperiksa, maka sampel dapat disimpan pada suhu 4°C atau pada suhu ruangan dalam suasana aerob selama beberapa hari. Tetapi bila spesimen telah diinokulasikan pada perbenihan cair maupun padat maka harus segera diinkubasikan dalam suasana anaerob. Keadaan ini untuk mencegah sel vegetatif terpapar oleh oksigen.

Untuk mengisolasi kuman *C. difficile* dapat digunakan berbagai perbenihan selektif antara lain: *clostrisel*, *cycloserine cefoxitin fructose agar* (CCFA), agar darah domba yang diberi antibiotika klindamisin atau kanamisin.⁽¹⁰⁾ Identifikasi bakteri dapat dilakukan dengan cara mikroskopis dan uji biokimiawi. Pemeriksaan mikroskopik dilakukan dengan cara pewarnaan Gram, dimana kuman *C. difficile* tampak sebagai kuman batang berspora subterminal positif Gram.

Uji biokimia dapat dilakukan dengan cara konvensional yaitu menggunakan peragian gula fruktosa, hidrolisis eskulin, digesti susu, reaksi indol, reaksi lesitinase dan reaksi hemolisis agar darah. Cara lain untuk mengidentifikasi kuman anaerob dengan menggunakan sistem API-ZYM, Minitek Anaerob H, API-An-Indent dan RAPID ANA Sistem.⁽¹⁴⁾

Deteksi toksin

Untuk mendeteksi toksin A atau B, dapat dilakukan dengan beberapa cara antara lain: uji sitotoksitas yang dilakukan dengan menggunakan biakan sel jaringan (*culture cytotoxicity assay*). Cara ini memerlukan pengamatan seperti terjadinya perubahan bentuk sel, lisis sitoplasma, piknosis ikatan antar sel menjadi lepas dan terbentuknya sel busa (*foam cell*). Keadaan ini disebut sebagai efek sitopatik.^(11,14) Uji yang lain berupa uji serologik dapat dilakukan dengan cara uji koaglutinasi dan *enzyme-linked immunoabsorbent assay* (ELISA). Uji koaglutinasi umumnya memakai lateks untuk melekatkan antitoksin yang spesifik. Dasar uji ini adalah pengikatan antigen (toksin) dengan antitoksin. Cara pengujian koaglutinasi ini banyak digunakan karena teknik pengerjaannya sangat

mudah, sederhana dan biaya ringan. Tetapi untuk mendeteksi toksin A *C. difficile* hasilnya kurang memuaskan, karena nilai positif semuanya cukup tinggi.⁽¹¹⁾ Cara uji serologik yang lebih akurat yaitu uji ELISA, yang menggunakan reaksi antara antibodi poliklonal atau monoklonal dengan toksin A atau B dari *C. difficile* yang menggunakan enzim sebagai faktor kojugat, kemudian di label dengan substrat sebagai zat warna untuk melihat ada tidaknya toksin. Cara ELISA ini memberikan nilai sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi dan waktu pemeriksaan relatif singkat.⁽¹⁴⁾ Untuk mendeteksi toksin A dapat dilakukan dengan cara *ligated ileal loop*. Uji ini menggunakan usus hewan percobaan kelinci atau domba. Tetapi uji *ligated ileal loop* ini sudah ditinggalkan meskipun hasilnya sensitif, karena teknik pelaksanaannya cukup sulit dan biaya yang mahal. Kini untuk mendeteksi adanya toksin *C. difficile* dapat dilakukan dengan teknik *polymerase chain reaction* (PCR).⁽¹⁵⁾ Caranya dengan mengamplifikasi segmen *repeating* sikuen gen toksin A *C. difficile*. Keuntungan cara ini yaitu dapat mendeteksi toksin terutama toksin A dengan jumlah sampel yang sangat sedikit dan dalam waktu yang singkat.⁽¹⁵⁾

PENGOBATAN

Pengobatan tidak diperlukan bagi penderita yang asimtomatik. Bila penderita dengan diare berat, maka keadaan tersebut perlu diberikan antibiotika golongan metronidazol atau golongan vankomisin selama 10-14 hari. Beberapa penelitian membuktikan bahwa pengobatan dengan metronidazol memberikan efek yang baik, kesembuhan mencapai 95%. Kemungkinan kambuh sekitar 15-20%. Bila terjadi kekambuhan, dapat diberikan pengobatan metronidazol atau vankomisin selama 2 minggu.⁽¹⁶⁾

KESIMPULAN

Clostridium difficile yang menghasilkan toksin A dan B adalah mikroorganisme patogen penyebab penyakit *pseudomembranous colitis*, *antibiotic associated diarrhoea* dan infeksi nosokomial di rumah sakit. Sekitar 15-25% pasien

yang dirawat di rumah sakit terkena infeksi penyakit ini. Diagnosis laboratorium dapat dilakukan dengan pemeriksaan tinja yaitu kultur dengan cara isolasi kuman. Untuk mendeteksi toksin dapat dilakukan pemeriksaan uji serologik dengan cara latex aglutinasi dan ELISA. Sedangkan uji sitotoksik dapat dilakukan dengan biakan sel dan *ligated ileal loop*. Cara lain yang dapat mendeteksi toksin A dan B dengan cepat yaitu menggunakan teknik PCR.

Daftar Pustaka

1. Bartlett JG. Clostridium: history of its role as an enteric pathogen and the current state of knowledge about the organism. *Clin Infect Dis* 1994; 18: S265-S72.
2. Lyerly DM, Krivan HC, Wilkins TD. *Clostridium difficile*: its disease and toxins. *Clin Microbiol Rev* 1988; 1: 1-18.
3. Fekety R. Antibiotic-associated colitis. In: Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE, editors. Principles and practice of infection disease. 4th ed. New York: Churchill Livingstone; 1995. p. 978.
4. Johnson S, Clabots CR, Linn FV, Olison MM, Petersson LR, Gerding DN. Nosocomial *Clostridium difficile* colonisation and disease. *Lancet* 1990; 336: 97-100.
5. Wren BS, Heard SR, Tabaqchali S. Association between production of toxin A and B and types of *Clostridium difficile*. *J Clin Pathol* 1987; 40: 1397-401.
6. Larson HE, Barclay FE, Honour P, Hill ID. Epidemiology of *Clostridium difficile* in infant. *J Infect Dis* 1982; 146: 727-33.
7. Lyerly DM. Epidemiology of *Clostridium difficile* disease. *Clinical Microbiology News letter* 1993; 15: 49-50.
8. Alfa MJ, Tim DU, Beda G. Survey of incidence of *Clostridium difficile* infection in Canadian hospitals and diagnostic approaches. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 2076-80.
9. McFarland LV, Mulligan ME, Kwok RY, Stamm WE. Nosocomial acquisition of *Clostridium difficile* infection. *N Engl J Med* 1989; 320: 204-10.
10. George WL, Sutter VL, Citron D, Finegold SM. Selective and differential medium for isolation of *Clostridium difficile*. *J Clin Microbiol* 1979; 9: 214-9.
11. Hathaway CL. Toxigenic clostridia. *Clin Microbiol Rev* 1990; 3: 66-98.
12. Gumerlock PH, Tang YJ, Weiss JB, Silva JR. Specific detection of toxigenic strain of *Clostridium difficile* in stool specimens. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 507-11.
13. Spencer R C. The role of antimicrobial agents in the aetiology of *Clostridium difficile* associated disease. *J Antimicrob Chemother* 1998; 41: S21-S7.
14. Turgeon DK, Novicki TJ, Quick J, Carlson LD, Miller P, Ulness B, et al. Six rapid tests for direct detection of *Clostridium difficile* and its toxins in fecal samples compared with the fibroblast cytotoxicity assay. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 667-70.
15. Be langer SD, Boissinot M, Clairoux N, Picard FJ, Bergeron MG. Rapid detection of *Clostridium difficile* in feces by real time PCR. *J Clin Microbiol* 2003; 4: 730-4.
16. Fekety RA, Shah B. Diagnosis and treatment of *Clostridium difficile* colitis. *JAMA* 1993; 269: 71-5.