

Chorobotwórczość *Clostridium difficile* u człowieka i zwierząt w ocenie ewentualnych wzajemnych powiązań

MARIAN TRUSZCZYŃSKI, ZYGMUNT PEJSAK

Zakład Chorób Świń Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego,
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Truszczyński M., Pejsak Z.

Pathogenicity of *Clostridium difficile* in humans and animals in the assessment of eventual connections

Summary

The paper reviews literature concerning *Clostridium* (*C.*) *difficile*. The properties and its role in the etiology and pathogenesis of the disease in humans and animals including food animals, companion animals and laboratory animals is presented. The importance of toxin A and toxin B in the pathogenicity of *C. difficile* is stressed. The major risk factor in provoking diarrhea is the use of antibiotics, particularly in hospitalized patients with increasing age, in the presence in the intestinal flora of *C. difficile*. Besides antibiotics, other conditions that may affect the intestinal flora are also favoring the development of the disease caused by *C. difficile*. The disease likewise occurs outside the hospital. As an etiological agent with a pathogenesis similar to that mentioned in humans, during the last years *C. difficile* is increasingly recognized in animals, as well. It is the most important cause of neonatal diarrhea in swine in some regions of the world. *C. difficile* infection in foals and mature horses may vary from a mild disease with diarrhea to a life-threatening disease. *C. difficile* has proved to be pathogenic for dogs and cats. According to the cited literature, while the transmission of *C. difficile* from animals to humans does take place, zoonotic activity of strains originating from animals has not been demonstrated.

Keywords: *Clostridium difficile*, antibiotic associated diarrhea, similarities and differences between humans and animals

Charakterystyka gatunku

Clostridium (*C.*) *difficile* jest Gram-dodatnią, wytwarzającą przetrwalniki bakterią beztlenową. Występuje w przewodzie pokarmowym człowieka i zwierząt jako komensal lub drobnoustrój warunkowo chorobotwórczy. Posiada fimbrie umożliwiające adhezję do błony śluzowej jelit. Głównymi czynnikami chorobotwórczości są: enterotoksyna A lub TcdA i cytotoksyna B lub TcdB. W obrębie gatunku rozróżniono 12 serogrup (A-I, K, X, S) (16). Obecnie znanych jest około 400 różnych rybotypów *C. difficile*. Spośród nich jedynie rybotypy wytwarzające toksyny wywołują zachorowania (22, 43).

Rola w etiologii i patogenezie

Przez szereg lat, od wykrycia w 1935 r., *C. difficile* uważano za niechorobotwórczy drobnoustrój wchodzący w skład normalnej flory jelitowej człowieka i zwierząt, w tym gospodarskich i towarzyszących człowiekowi oraz laboratoryjnych. Dopiero po znacznym

upływie czasu od wprowadzenia antybiotyków w leczeniu ludzi zorientowano się, że stanowi on przyczynę biegunki pojawiającej się u hospitalizowanych pacjentów, którym podawano antybiotyki (antibiotic-associated diarrhea, AAD). Okazało się, że *C. difficile* nie jest jedynym gatunkiem bakterii wywołującym AAD, jednakże najczęściej w tym powiązaniu wykazywanym (22).

Oprócz endogennej przyczyny ujawniania się przez niepatogenny do ingerencji antybiotykami drobnoustrój jego chorobotwórczości i wywołania infekcji z objawami biegunki wykazano, że również występują analogiczne schorzenia u ludzi, powodowane przez pochodzące z zewnątrz szczepy *C. difficile*. Źródłem tego rodzaju egzogennych infekcji są inne osoby lub zanieczyszczone tymi szczepami środowisko, względnie żywność.

Zachorowania, określane jako AAD, nasilają się w ciągu minionej dekady w szeregu krajów. Obecnie rocznie w USA wykazuje się u ludzi ponad 300 000 przypadków wywołanej przez *C. difficile* biegunki, co

dawniej w takiej liczbie nie miało miejsca. Stwierdza się też, chociaż znacznie rzadziej, biegunkę wywołaną u ludzi przez *C. difficile* bez wcześniejszego podawania antybiotyków (17).

Powodowana przez *C. difficile* biegunka utrzymuje się u człowieka przez kilka dni, a następnie zanika. Może jednak przekształcić się w zagrażające życiu zapalenie rzekomobłoniaste okrężnicy (pseudomembranous colitis, PMC).

U zwierząt gospodarskich i zwierząt towarzyszących człowiekowi, podobnie jak wyżej, *C. difficile* stanowi niechorobotwórczą bakterię flory jelitowej lub przyczynę zaburzeń ze strony przewodu pokarmowego.

Toksyna A powoduje destrukcję struktur występujących w cytoplazmie komórek epitelialnych. Zwiększa przepuszczalność błon komórkowych i sekrecję płynów do światła jelita, charakterystyczną dla działania enterotoksyn w ogóle. Wywołuje też stany zapalne w tkankach jej oddziaływania. Toksyna B nie posiada wymienionych właściwości enterotoksycznych toksyny A, lecz jej potencjał cytotoksyczny jest wg Tonna i Welsby'ego (43) 1000-krotnie wyższy niż toksyny A.

Główna różnica między toksynami A i B polega zatem na powodowaniu przez tę pierwszą u zwierząt doświadczalnych gromadzenia się płynów ustrojowych w jelitach, co nie ma miejsca w przypadku toksyny B (10, cyt. wg 22). Mimo to wykazano, że szczepy wytwarzające wyłącznie toksynę B mogą wywołać u człowieka, podobnie jak szczepy wytwarzające obie toksyny, schorzenie o objawach klinicznych (9, 20).

Szczepy *C. difficile*, produkujące wyłącznie toksynę B, izolowane są również od świń (40) i koni (3, 27). Obie toksyny indukują pojawianie się czynnika α powodującego martwicę nowotworową i prozapalnych interleukin (22). Efektem jest tworzenie się wspomnianych zmian pseudobłoniastych w okrężnicy. Składają się one z: leukocytów obojętnochłonnych, włókniaka, mucyny i ścian obumarłych komórek (30). Zapalenie okrężnicy wywołano eksperymentalnie u gnotobiotycznych prosiąt po podaniu im toksynotwórczych szczepów *C. difficile* (41). Oprócz wymienionych toksyn, niektóre szczepy *C. difficile*, w tym z należącymi do rybotypów 027 i 078, wytwarzają dwuskładnikową toksynę (CDT) (35). Wykazano, że powoduje ona gromadzenie się płynu w pętlach jelitowych u królików (13). Wytwarzana jest przez szczepy izolowane od człowieka lub zwierząt.

Zgodnie z poglądem Poutanena i Simora (30, cyt. wg 22), w odniesieniu do patogenezы choroby wywołanej przez *C. difficile* u człowieka nie tylko antybiotyki, ale każdy czynnik, który powoduje zaburzenia w równowadze normalnej flory jelitowej, czyli w relacjach tworzących ją grup drobnoustrojów, sprzyja rozwojowi postaci klinicznej. Drugim ważnym elementem jest kolonizacja przez toksynotwórcze szczepy *C. difficile* błony śluzowej przewodu pokarmowego, czemu sprzyjają zaburzenia wymienione w punkcie

pierwszym oraz co umożliwiają wspomniane fimbrie warunkujące adhezję. Trzecim warunkiem ujawnienia się procesu chorobowego jest wytwarzanie przez namnożone w dużej ilości komórki *C. difficile* toksyn: A i B lub jednej z nich. Przedstawiony pogląd dotyczący patogenezы infekcji u człowieka może być też akceptowalny w odniesieniu do patogenezы infekcji wywoływanej przez *C. difficile* u zwierząt.

Kolonizacja przez ten drobnoustroj jelit u noworodków niektórych gatunków ssaków (w tym ludzkich osesków) jest jednak w konsekwencji bezobjawowa mimo obecności cytotoxyn w kale, identycznych z tymi cytotoxynami, które na przykład u osób dorosłych wywołują zapalenie okrężnicy o ciężkim przebiegu (24). Obserwację tę wyjaśnia się niedostateczną liczbą występujących w jelicie noworodków receptorów, czyli miejsc łączenia się jelit z toksyną.

Nie wszystkie gatunki noworodków ssaków chronione są tym sposobem przed chorobą. Dowodzą tego publikacje dotyczące np. prosiąt i źrebiąt, które zachorowują (12, 22, 23, 47). Podobnie jak oseski ludzkie, nowo narodzone króliki i chomiki nie są wrażliwe na działanie toksyn *C. difficile* (20, 21). Niezależnie od znaczenia w patogenezie liczby receptorów swoistych dla toksyny A *C. difficile* prawdopodobne są też inne, bliżej nieznanne czynniki, sprzyjające pojawieniu się procesu chorobowego.

Za przyczynę zwiększania się liczby przypadków biegunki wywołanej przez *C. difficile* u ludzi i zwierząt, oprócz antybiotyków i innych czynników zaburzających równowagę flory jelitowej, uznano też pojawianie się w minionej dekadzie XXI w. nowych rybotypów tego gatunku bakterii, podobnych w chorobotwórczości do wysoce patogennych rybotypów 027 i 078 (15). Wykazywano je również w żywności zwierzęcego pochodzenia, zwłaszcza w produktach mięsnych. Wynik ten, jak też kontakty ludzi ze zwierzętami, nosicielami *C. difficile*, uzasadniają potrzebę kontynuowania badań zmierzających do wyjaśnienia, czy szczepy odzwierzęce są zoonotyczne, czyli chorobotwórcze dla człowieka, podobnie jak np. pałeczki *Salmonella*. Jak wynika z ostatnio opublikowanego monograficznego opracowania Keessena i wsp. (22) na temat *C. difficile* u ludzi i zwierząt, nie dowiedziono do chwili obecnej chorobotwórczości dla człowieka odzwierzęcych szczepów *C. difficile*, mimo że ich właściwości były w szeregu przypadków bardzo zbliżone do właściwości szczepów izolowanych od ludzi, które u nich wywoływały zachorowania. Możliwa jest natomiast, mająca dość często miejsce, transmisja szczepów zwierzęcych do ludzi, ale, jak sądzą Keessen i wsp. (22), bez wywoływania u nich zachorowań.

Dodatkowo, ze względu na niewywoływanie przez *C. difficile* biegunek u tuczników oraz niskie u nich nosicielstwo w momencie uboju (do 3,9%), przeniesienie z tego źródła za pośrednictwem mięsa infekcji do człowieka wydaje się mało prawdopodobne (29).

Bardziej słuszne jest przypuszczenie, że produkty żywnościowe mogą być wtórnie zanieczyszczone szczepami pochodzącymi od ludzi i stanowić pośrednio źródło ich infekcji i biegunki. Potwierdza to pogląd, że mimo możliwej transmisji szczepów od zwierząt do ludzi nie one są przyczyną zachorowań człowieka. Natomiast można przypuszczać, że u poszczególnych gatunków zwierząt i u człowieka, czyli endogennie, w wyniku powstawania warunków sprzyjających kolonizacji jelit przez *C. difficile* oraz w związku z pojawianiem się na skutek genotypowej i fenotypowej zmienności nowych, wybitnie toksynotwórczych szczepów dochodzi do ujawniania się właściwości chorobotwórczych u – do tego momentu niechorobotwórczych – szczepów *C. difficile*, w tym zwłaszcza produkcji toksyn A i/lub B.

W ciągu minionych 10 lat wzrosło znaczenie *C. difficile* w medycynie weterynaryjnej. Drobnoustroj ten obecnie uważany jest za ważny czynnik etiologiczny biegunki prosiąt w Ameryce Północnej (37). Odgrywa również znaczącą rolę w wywoływaniu chorób biegunkowych u warchlaków (14, 20, 33, 37, 39), u bydła zwłaszcza cieląt (14, 37, 38), u koni (3, 6, 7, 27) i zwierząt towarzyszących człowiekowi, głównie psów i kotów (22, 28, 42, 45, 46).

Zmiany patologiczne związane z infekcją *C. difficile* mogą oprócz okrężnicy występować też w jelicie cienkim. Dotyczy to m.in. cieląt (14). Natomiast u źrebiąt występują one nawet częściej w jelicie cienkim (20). U koni dorosłych rozwijają się one w dwunastnicy, blisko jelita czczego (4). U chomików i świnek morskich głównym miejscem zmian chorobowych jest jelito ślepe (31).

Objawy kliniczne i dane epidemiologiczne

Efekty kliniczne infekcji wywołanej przez *C. difficile* u człowieka i zwierząt są w swym obrazie chorobowym zróżnicowane. Najczęstszym objawem jest biegunka. Niekiedy jednak ten objaw zakażenia nie ujawnia się, mimo toczącego się w jelitach procesu chorobowego, co łączy się z toksycznym rozszerzeniem światła okrężnicy (toxic megacolon) (30). Następstwem infekcji mogą być również: podwyższona wewnętrzna ciepłota ciała, utrata apetytu, nudności i pogarszające się samopoczucie (24).

W wyniku infekcji wywołanej przez *C. difficile* w miocie prosiąt zachoruje około 30% noworodków, a niekiedy wszystkie prosięta danego miotu (12, 25, 36). Śmiertelność jest niska, może maksymalnie dochodzić do 16% (2). U ozdrowieńców przyrosty masy ciała są wolniejsze w porównaniu do prosiąt, które nie przechodziły biegunki. Doświadczenia laboratoryjne z eksperymentalnym zakażeniem prosiąt hodowlą z przetrwalnikami *C. difficile* potwierdzają jego chorobotwórczość dla tego gatunku i obserwowane w terenie objawy chorobowe (41).

Wśród wyosobnionych od prosiąt izolatów *C. difficile* najczęstszy (83%) jest rybotyp 078 (19). Wśród

zidentyfikowanych wariantów *C. difficile* nie można było określić takich, które uznano by za bezwzględnie chorobotwórcze. Reprezentują one zatem warunkowo chorobotwórcze bakterie przy nie poznanym bliżej mechanizmie nabywania chorobotwórczości (5).

C. difficile u źrebiąt i koni jest przyczyną biegunki o łagodnym przebiegu. Rzadko manifestuje się cięższą postacią z krwiotocznym i martwiczym zapaleniem okrężnicy (8). Dane dotyczące odsetka śmiertelności u koni, powodowanej przez *C. difficile*, są różne zależnie od przedstawiających je autorów (26). Z ostatnio opublikowanych badań wynika, że większą śmiertelność koni z biegunką na tle *C. difficile* stwierdza się w następstwie zakażenia szczepami wytwarzającymi toksynę A (34).

Znaczenie etiologiczne *C. difficile* w biegunce u cieląt nie jest jednoznacznie potwierdzone. Doustne podanie toksynotwórczych szczepów *C. difficile* nowo narodzonemu cielętom, które pobrały siarę, skutkowało kolonizacją jelit, lecz nie produkcją istotnych w patogenezie toksyn ani też pojawianiem się biegunki. Natomiast dojelitowe podanie cielętom egzotoksyn *C. difficile* wywoływało gromadzenie się w jelitach płynu oraz uszkodzanie błony śluzowej ściany jelit z jej infiltracją leukocytami obojętnochłonnymi. Na tej podstawie można by wnioskować, że jeżeli nastąpi kolonizacja jelit w warunkach naturalnych i po dodatkowych bodźcach (zwłaszcza zmianie karmy), wytwarzanie toksyn A i/lub B oraz generowanie objawów, zwłaszcza biegunki jest możliwe (33).

Podobną współzależność między kolonizacją przez *C. difficile* jelit a produkcją toksyn stwierdzono u psów (28). Natomiast nosicielstwo tego drobnoustroju u tego gatunku zwierząt obserwuje się również bez występowania objawów chorobowych (11). Identyczna sytuacja występuje u kotów (1).

Bezobjawowe nosicielstwo *C. difficile* u ludzi jest częstsze u osób starszych. Z ostatnio opublikowanych badań, wykonanych przy użyciu np. RT-PCR, wynika, że drobnoustroje te wykazywane są częściej niż miało to miejsce dawniej (22).

Ilościowe dane o występowaniu *C. difficile*

Rybotypowanie 3137 szczepów *C. difficile* izolowanych z próbek kału ludzi z biegunką na tle tego drobnoustroju wykazało, że najczęściej zidentyfikowany był typ 001 (27,4%). Kolejnym okazał się typ 014 (9,3%) i 078 (9,1%) (15). Dodać należy, że w związku z brakiem międzynarodowych standardów, co do wykrywania w kale szczepów *C. difficile* i zidentyfikowania rybotypów, wyniki dotyczące nosicielstwa tego drobnoustroju i jego odmian u człowieka i poszczególnych gatunków zwierząt różnią się, zależnie od autora, użytych testów diagnostyki laboratoryjnej oraz wieku i gatunku badanego zwierzęcia. Bywa też tak, że liczby zidentyfikowanych w kale zwierząt szczepów poszczególnych rybotypów nie pokrywają się z liczbami szczepów wytwarzających egzotoksyny A i B. Dla

praktyki lekarskiej istotne jest natychmiast wykrywanie szczepów toksynotwórczych lub toksyn, gdyż wyłącznie one warunkują chorobotwórczość (22).

Dużą różnorodność rybotypów wykazano też u koni, najczęściej: 015, 033, 078 i 01. Wymienione rybotypy występują też u człowieka. Nie potwierdzono jednak ich znaczenia zoonotycznego (19). U źrebiąt odsetek nosicieli *C. difficile* dochodził do 29% badanych osobników (7), a obniżał się do 1% lub do 0% u koni starszych (45). U koni z biegunką występowanie *C. difficile* było częstsze i dochodziło do 42% badanych próbek (45).

Zależna od wieku częstość izolowania szczepów *C. difficile* została opisana też u drobiu. U młodego drobiu 62% ptaków było jego nosicielami i siewcami. Odsetek ten zmniejszał się w kolejnych miesiącach życia (48). Odsetki nosicieli, ptaków dorosłych, wahały się od 1,6% do 20% (1, 18). Wykazano też dużą różnorodność rybotypów *C. difficile* włącznie z rybotypami, które oprócz drobiu występują u człowieka (48).

Odsetki nosicieli *C. difficile* u zdrowych psów i kotów wynosiły od 1,4% do 21% (44). Kiedy zwierzęta te wracały z klinik weterynaryjnych, nosicielstwo *C. difficile* było wyższe i wynosiło 18% do 40% (11).

Stwierdzono, że transmisja *C. difficile*, o czym już wspomniano, między poszczególnymi gatunkami zwierząt i z tych źródeł do człowieka jest dość częsta, przy czym szczepy ludzkie są często nieodróżnialne od szczepów pochodzących od świń, cieląt, koni i psów (12).

Uwagi końcowe

Reasumując, jak wyka z monograficznego opracowania Keessena i wsp. (22) oraz innych cytowanych publikacji, *C. difficile* uznany jest za najczęstszą przyczynę infekcji szpitalnych u otrzymujących antybiotyki ludzi, zwłaszcza w wieku podeszłym. Zakażenie szpitalne manifestuje się głównie biegunką. Od początku XXI w. zauważa się wzrost liczby przypadków oraz poważniejszy przebieg zachorowań nie tylko u osób hospitalizowanych, lecz również przebywających poza szpitalem. Wzrasta też znaczenie infekcji wywołanych przez *C. difficile* u zwierząt gospodarskich i u zwierząt towarzyszących człowiekowi. Wykazano to w szczególności u świń w Ameryce Północnej. Szczepy izolowane od zwierząt w wysokim odsetku są bardzo zbliżone w swych właściwościach z izolowanymi od ludzi. Wskazuje to na możliwość ich transmisji między zwierzętami a człowiekiem. Nie wykazano jednakże, by szczepy odzwierzęce miały znaczenie w wywoływaniu zachorowań u ludzi. Istotą patogenezy infekcji ludzi i zwierząt wydaje się natomiast endogenne ujawnianie właściwości chorobotwórczych szczepów *C. difficile* w następstwie czynników dodatkowych, jak podawanie antybiotyków lub zmiana sposobu żywienia, względnie paszy, co powoduje niepożądane zaburzenie w relacjach poszczegól-

nych grup drobnoustrojów normalnej flory jelitowej. Dodatkową przyczyną chorobotwórczości *C. difficile* jest obserwowana zmienność w kierunku powstawania szczepów szczególnie patogennych. Występują one przede wszystkim w obrębie rybotypów 027 i 078. Dodać należy, że zachorowania wywołują wyłącznie te szczepy *C. difficile*, które wytwarzają bądź obie egzotoksyny – A i B, bądź jedną z nich. Dotychczas nie wykazano zoonotycznej transmisji *C. difficile*, jak ma to miejsce w przypadku serowarów *Salmonella*, *Escherichia coli* lub *Campylobacter*.

Piśmiennictwo

1. Al Saif N., Brazier J. S.: The distribution of *Clostridium difficile* in the environment of South Wales. *J. Med. Microbiol.* 1996, 45, 133-137.
2. Anderson M. A., Songer J. G.: Evaluation of two enzyme immunoassays for detection of *Clostridium difficile* toxins A and B in swine. *Vet. Microbiol.* 2008, 128, 204-206.
3. Arroyo L. G., Staempfli H., Weese J. S.: Molecular analysis of *Clostridium difficile* isolates recovered from horses with diarrhea. *Vet. Microbiol.* 2007, 120, 179-183.
4. Arroyo L. G., Stampili H. R., Weese J. S.: Potential role of *Clostridium difficile* as a cause of duodenitis-proximal jejunitis in horses. *J. Med. Microbiol.* 2006, 55, 605-608.
5. Avbersek J., Janezic A., Pate M., Rupnik M., Zidaric V., Logar K., Vengust M., Zemljic M., Pirs T., Ocepek M.: Diversity of *Clostridium difficile* in pigs and other animals in Slovenia. *Anaerobe* 2009, 15, 252-255.
6. Baverud V.: *Clostridium difficile* infections in animals with special reference to the horse. A review. *Vet. Q* 2002, 24, 203-219.
7. Baverud V., Gustafsson A., Franklin A., Aspan A., Gunnarsson A.: *Clostridium difficile*: prevalence in horses and environment, and antimicrobial susceptibility. *Equine Vet. J.* 2003, 35, 465-471.
8. Baverud V., Gustafsson A., Franklin A., Lindholm A., Gunnarsson A.: *Clostridium difficile* associated with acute colitis in mature horses treated with antibiotics. *Equine Vet. J.* 1997, 29, 279-284.
9. Berg R. J. van den, Claus E. C., Oyib D. H., Klaassen C. H., Dijkshoorn L., Brazier J. S., Kuijper E. J.: Characterization of toxin a-negative toxin B-positive *Clostridium difficile* isolates from outbreaks in different countries by amplified fragment length polymorphism and PCR ribotyping. *J. Clin. Microbiol.* 2004, 42, 1035-1041.
10. Borriello S. P.: Pathogenesis of *Clostridium difficile* infection. *J. Antimicrob. Chemother.* 1998, 41 (Suppl. C), 13-19.
11. Clooten J., Kurth S., Arroyo L., Weese J. S.: Prevalence and risk factors for *Clostridium difficile* colonization in dogs and cats hospitalized in an intensive care unit. *Vet. Microbiol.* 2008, 129, 209-214.
12. Debast S. B., van Leengoed L. A., Goorhuis A., Harmanus C., Kuijper E. J., Bergwerff A. A.: *Clostridium difficile* PCR ribotype 078 toxinotype V found in diarrhoeal pigs identical to isolates from affected humans. *Environ. Microbiol.* 2009, 11, 505-511.
13. Geric B., Carman R. J., Rupnik M., Genheimer C. W., Sambol S. P., Lyerly D. M., Gording D. N., Johnson S.: Binary toxin-producing, large clostridial toxin-negative *Clostridium difficile* strains are enterotoxigenic but do not cause disease in hamsters. *J. Infect. Dis.* 2006, 193, 1143-1151.
14. 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.
15. Hensgens M. P., Goorhuis A., Notermans D. W., van Benthem B. H., Kuijper E. J.: Decrease of hypervirulent *Clostridium difficile* PCR ribotype 027 in the Netherlands. *Euro Surveill.* 2009, 14, 19402.
16. Hirsh D. C., MacLachlan N. J., Walker R. L.: *Clostridium*, [w:] *Veterinary Microbiology*. 2nd ed., Blackwell Publishing Ames, Iowa, USA 2004, 202-208.
17. Huhulescu S., Kiss R., Brettlecker M., Cerny R. J., Hess C., Wewalka G., Allerberger F.: Etiology of acute gastroenteritis in three sentinel general practices Austria 2007. *Infection* 2009, 37, 103-108.
18. Indra A., Lassnig H., Baliko N., Much P., Fiedler A., Huhulescu S., Allerberger F.: *Clostridium difficile*: a new zoonotic agent? *Wien. Klin. Wochenschr.* 2009, 121, 91-95.
19. Keel K., Brazier J. S., Post K. W., Weese S., Songer J. G.: Prevalence of PCR ribotypes among *Clostridium difficile* isolates from pigs, calves, and other species. *J. Clin. Microbiol.* 2007, 45, 1963-1964.

20. Keel M. K., Songer J. G.: The comparative pathology of *Clostridium difficile*-associated disease. *Vet. Pathol.* 2006, 43, 225-240.
21. Keel M. K., Songer J. G.: The distribution and density of *Clostridium difficile* toxin receptors on the intestinal mucosa of neonatal pigs. *Vet. Pathol.* 2007, 44, 814-822.
22. Keesen E. C., Gaastra W., Lipman L. J. A.: *Clostridium difficile* infection in humans and animals, differences and similarities. *Vet. Microbiol.* 2011, 153, 205-217.
23. Keesen E. C., Leengoed L. A., Bakker D., van den Brink K. M., Kuiper E. J., Lipman L. J.: Prevalence of *Clostridium difficile* in swine thought to have *Clostridium difficile* infections (CDI) in eleven swine operations in the Netherlands. *Tijdschr. Diergeneesk.* 2010, 135, 134-137.
24. Kelly C. P., Pothoulakis C., Lament J. T.: *Clostridium difficile* colitis. *N. Engl. J. Med.* 1994, 330, 257-262.
25. Leengoed L. van, Debast S. B., Bergwerff A. A., Kuiper E. J.: Neonatal diarrhea in piglets caused by *Clostridium difficile*, [w:] Proceedings of the 20th IPVF Congress, Durban South Africa, June 2008, 134.
26. Magdesian K. G., Dujowich M., Madigan J. E., Hansen L. M., Hirsh D. C., Jang S. S.: Molecular characterization of *Clostridium difficile* isolates from horses in a intensive care unit and association of disease severity with strain type. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2006, 228, 751-755.
27. Magdesian K. G., Hirsh D. C., Jang S. S., Hansen L. M., Madigan J. E.: Characterization of *Clostridium difficile* isolates from foals with diarrhea: 28 cases (1993-1997). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2002, 220, 67-73.
28. 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. *Vet. Intern. Med.* 2002, 16, 533-540.
29. Norman K. N., Harley R. B., Scott H. M., Hume M. E., Andrews K., Brawley A. D.: Varied prevalence of *Clostridium difficile* in an integrated swine operation. *Anaerobe* 2009, 15, 256-260.
30. Poutanen S. M., Simor A. E.: *Clostridium difficile*-associated diarrhea in adults. *CMAJ* 2004, 51-58.
31. Reh J. E., Lu Y. S.: *Clostridium difficile* typhlitis in hamsters not associated with antibiotic therapy. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1982, 181, 1422-1423.
32. Rodriguez-Palacios A., Stämpfli 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.
33. Rodriguez-Palacios A., Stämpfli H. R., Stalker M., Duffield T., Weese J. S.: Natural and experimental infection of neonatal calves with *Clostridium difficile*. *Vet. Microbiol.* 2007, 124, 166-172.
34. Ruby R., Magdesian K. G., Kass P. H.: Comparison of clinical microbiologic, and clinicopathologic findings in horses positive and negative for *Clostridium difficile* infection. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2009, 234, 777-784.
35. Rupnik M.: Is *Clostridium difficile*-associated infection a potentially zoonotic and foodborne disease? *Clin. Microbiol. Infect.* 2007, 13, 457-459.
36. Songer J. G.: The emergence of *Clostridium difficile* as a pathogen of food animals. *Anim. Health Res. Rev.* 2004, 5, 321-326.
37. Songer J. G., Anderson M. A.: *Clostridium difficile*: an important pathogen of food animals. *Anaerobe* 2006, 12, 1-4.
38. Songer J. G., Jones R., Anderson M. A., Barbara A. J., Post K. W., Trinh H. T.: Prevention of porcine *Clostridium difficile*-associated disease by competitive exclusion with nontoxicogenic organisms. *Vet. Microbiol.* 2007, 124, 358-361.
39. Songer J. G., Post K. W., Larson D. J., Jost B. H., Glock R. D.: Infection of neonatal swine with *Clostridium difficile*. *Swine Health Prod.* 2000, 8, 185-189.
40. Squire M. M., Thean S., Chang B. J., Riley T. V.: A novel molecular type of *Clostridium difficile* in neonatal pigs in Australia, [w:] Proc. of the Third International *Clostridium difficile* Symposium, Bled, Slovenia, September 2010, 31.
41. Steele J., Feng H., Parry N., Tzipori S.: Piglet models of acute or chronic *Clostridium difficile* illness. *J. Infect. Dis.* 2010, 201, 428-434.
42. Struble A. L., Tang Y. J., Kass P. H., Gumerlock P. H., Madewell B. R., Silva Jr. J.: Fecal shedding of *Clostridium difficile* in dogs: a period prevalence survey in a veterinary medical teaching hospital. *J. Vet. Diagn. Incest.* 1994, 6, 342-347.
43. Tonna I., Welsby P. D.: Pathogenesis and treatment of *Clostridium difficile* infection. *Postgrad. J. Med.* 2005, 81, 367-369.
44. Weese J. S., Finley R., Reid-Smith R. R., Janecko N., Rousseau J.: Evaluation of *Clostridium difficile* in dogs and the household environment. *Epidemiol. Infect.* 2010, 138, 1100-1104.
45. Weese J. S., Staempfli H. R., Prescott J. F.: A prospective study of the roles of *Clostridium difficile* and enterotoxigenic *Clostridium perfringens* in equine diarrhoea. *Equine Vet.* 2001, 33, 403-409.
46. 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.
47. Yaeger M. J., Kinyon J. M., Songer J. G.: A prospective case control study evaluating the association between *Clostridium difficile* toxins in the colon of neonatal swine and gross and microscopic lesions. *J. Vet. Diagn. Incest.* 2007, 19, 52-59.
48. Zidaric V., Zemljic M., Janezic S., Kocuvan A., Rupnik M.: High diversity of *Clostridium difficile* genotypes isolated from a single poultry farm producing replacement laying hens. *Anaerobe* 2008, 14, 325-327.

Adres autora: prof. dr hab. Marian Truszczyński, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy; e-mail: mtruszcz@piwet.pulawy.pl