

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

Studij medicinsko laboratorijske dijagnostike

Sanja Martin

**ULOGA ANTIBIOTIKA U NASTANKU
INFEKCIJA UZROKOVANIH
*CLOSTRIDIUM DIFFICILE***

Diplomski rad

Osijek, 2015.

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

Studij medicinsko laboratorijske dijagnostike

Sanja Martin

**ULOGA ANTIBIOTIKA U NASTANKU
INFEKCIJA UZROKOVANIH
*CLOSTRIDIUM DIFFICILE***

Diplomski rad

Osijek, 2015.

RAD JE OSTVAREN NA ODJELU ZA KLINIČKU
MIKROBIOLOGIJU OPĆE ŽUPANIJSKE BOLNICE POŽEGA

MENTOR: doc. dr. sc. DOMAGOJ DRENJANČEVIĆ, dr. med.

RAD IMA 33 LISTA, 5 TABLICA I 5 SLIKA

ZAHVALA

Zahvaljujem mentoru doc. dr. sc. Domagoju Drenjančeviću, dr. med. na nesebičnoj pomoći tijekom izrade diplomskoga rada.

Zahvaljujem Blaži Krakar, dr. med na stručnoj i nesebičnoj pomoći prilikom sakupljanja podataka.

Zahvalnost upućujem prof. dr. sc. Željku Glaviću kao ravnatelju OŽB Požega na potpori koju mi je pružao tijekom studiranja.

Najljepša hvala mojoj obitelji na podršci i razumijevanju iskazanom tijekom studiranja.

Sanja Martin

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1 <i>Clostridium difficile</i>	1
1.2. Građa i biološka svojstva	1
1.3. Patogeneza.....	2
1.4. Epidemiologija	2
1.5. Klinička slika.....	3
1.6. Dijagnoza infekcija uzrokovanih <i>C. difficile</i>	4
1.7. Liječenje	5
1.7.1. Antimikrobno liječenje.....	5
1.7.2. Drugi antimikrobni lijekovi.....	6
1.7.3. Probiotici i prebiotici.....	7
1.7.4. Fekalna transplantacija	7
1.8. Prevencija i mjere suzbijanja.....	8
2. CILJEVI RADA	9
3. ISPITANICI I METODE	10
3.1. Ispitanici	10
3.2. Metode rada.....	10
3.3. Statistička obrada	11
4. REZULTATI	12
5. RASPRAVA	19
6. ZAKLJUČAK.....	23
7. SAŽETAK.....	24
8. SUMMARY.....	25
9. LITERATURA	26
10. ŽIVOTOPIS.....	32
11. PRILOZI	33

POPIS KRATICA KORIŠTENIH U TEKSTU:

<i>C. difficile</i>	- <i>Clostridium difficile</i>
CDAB	- <i>C. difficile</i> Toxin A i Toxin B
CDAD	- eng. <i>Clostridium difficile – associated diseases</i> ; bolesti vezane uz <i>C. difficile</i>
CDC	- Centar za prevenciju i kontrolu bolesti
CDI	- eng. <i>Clostridium difficile infection</i> ; infekcije vezane uz <i>C. difficile</i>
ECDC	- <i>European Centre for Disease Prevention and Control</i>
EIA	- eng. <i>Enzyme immunoassay</i> ; imunoenzimski test
ELFA	- engl. <i>Enzyme Linked Fluorescent Assay</i> ; enzimno vezan fluorescentni test
IDSA	- <i>Infectious Diseases Society of America</i>
IgA	- imunoglobulin A
IgG	- imunoglobulin G
IgM	- imunoglobulin M
PCR	- lančana reakcija polimeraze
PMC	- pseudomembranozni kolitis
<i>S. boulardi</i>	- <i>Saccharomyces boulardi</i>
SHEA	- <i>Society for Healthcare Epidemiology of America</i>

1. UVOD

Bakterije koje prirodno nastanjuju sluznice ljudskog probavnog trakta čine crijevnu mikrofloru koja ima značajan utjecaj na zdravlje. Poremećaj crijevne mikroflore, zbog upotrebe antibiotika (najčešće penicilina, cefalosporina, klindamicina i fluorokinolona), može omogućiti pretjerani rast endogenih i nozokomijalnih patogena kao što je *Clostridium difficile*. *C. difficile* smatra se odgovornim za niz različitih stanja, i to od asiptomatske kolonizacije, dijareja različite težine do po život opasnih pseudomembranoznih kolitisa (PMC), a oboljenja koja izaziva *C. difficile* danas su poznata kao CDAD (bolesti vezane uz *C. difficile*). Još su neki od značajnih čimbenika rizika za nastanak bolesti uzrokovane *C. difficile*, dugotrajan boravak u bolnicama, starija životna dob (osobe starije od 65 godina) te teške bolesti u podlozi (1, 2, 3).

Kontaminirane površine prostorija i ruke medicinskog osoblja najčešći su putevi prijenosa infekcije u bolnicama.

1.1 *Clostridium difficile*

C. difficile jedan je od najvažnijih uzročnika PMC-a. Ta bakterija prvi je puta izolirana 1935. godine, ali tek 1978. godine pobuđuje interes mikrobiologa i infektologa kada je izolirana kod bolesnika s PMC-om, gdje je utvrđena veza između primjene nekih antibiotika i nastanka PMC-a (2).

C. difficile je u obliku spora prisutna u prirodi, u tlu, vodi i digestivnom traktu životinja, zdrave djece i odraslih ljudi. Izlučuje se stolicom domaćina, a infekcija nastaje od spora prisutnih u digestivnom traktu čovjeka ili unosom spora, kontaminiranom hranom, vodom, kao i preko prljavih ruku. Do sada objavljena istraživanja ukazuju da *C. difficile* u najvećem broju slučajeva uzrokuje infekcije kod hospitaliziranih bolesnika (2, 4, 5).

1.2. Građa i biološka svojstva

C. difficile je tanki, gram-pozitivni štapić, veličine od 3 - 5 μm x 0,5 μm , stvara spore koje su smještene supterminalno. Štapići su pokretni i ne posjeduju kapsulu (2).

Za uzgoj te bakterije moraju postojati striktno anaerobni uvjeti na obogaćenim podlogama, Columbia-agar ili fruktoza-agar uz dodatak krvi. Podlogama se dodaju još

cikloserin ili cefoksitin, antimikrobne tvari na koje je *C. difficile* otporan. Kolonije su žućkasto-bijelog ili sivo-bijelog pigmenta, okrugle ili nepravilne, plosnate ili malo uzdignute, veličine od 2 - 4 mm, bez hemolize; rubovi kolonija nazubljeni su, a površina bez sjaja. Za kulturu *C. difficile* karakterističan je miris po krezolu. Najčešći je uzorak za pretragu stolica (2).

U vegetativnom je obliku osjetljiv prema djelovanju dezinficijensa, dok u obliku spora može godinama preživjeti u vanjskoj sredini, podnosi kuhanje na 100°C i otporan je prema dezinficijensima, osim prema glutaraldehidu (3).

1.3. Patogeneza

C. difficile može biti toksičan i netoksičan. Sojevi koji uzrokuju PMC posjeduju najmanje tri činitelja virulencije, toksin A, toksin B i tvar koja usporava motilitet crijeva. Enterotoksin A izaziva izlučivanje elektrolita i tekućine u crijeva, citotoksin B izaziva citopatogeni učinak u HeLa staničnim kulturama, a toksin „3“ inhibira normalnu peristaltiku crijeva i time omogućava nastanak megakolona (2, 3, 5, 6, 7). Toksin A ima značajnu ulogu u crijevima, dok toksin B ima sistemski učinak (8). Nije svaki izolat *C. difficile* toksigen.

Djelovanjem toksina A dolazi do nekroze enterocita i jakog upalnog odgovora u lamini propriji. Na stijenci kolona stvaraju se na mjestima oštećene sluznice bijelo-žućkaste naslage koje se progresijom procesa spajaju i nastaje PMC. U mikroskopskom preparatu naslage se sastoje od nekrotičnih stanica i dosta leukocita. Leukociti se u citološkom pregledu stolice vide samo kod 30 do 50% bolesnika (9, 10, 11).

PMC se javlja za vrijeme, ali i nakon uzimanja antibiotika. Bolest može biti teška (smrtnost 10 - 20%), premda postoje i lakši neprepoznati slučajevi (3, 12, 13). Crijeva dojenčadi mogu biti kolonizirana u visokom postotku (15 - 80%), ali se bolest ne javlja, pretpostavlja se zbog zaštitnog djelovanja glikoproteina fetulina u mlijeku (3, 13).

1.4. Epidemiologija

C. difficile može dugo preživjeti u okolišu zahvaljujući svojim sporama koje mu omogućavaju zadržavanje u bolničkoj sredini. Nađen je na različitim površinama u bolnici, primjerice na rukama i odjeći zdravstvenog osoblja, koje možda ima glavnu ulogu

u širenju zaraze. U širenju zaraze, osim bolesnika s proljevom, važni su i asimptomatski kliconoše (9, 14). Asimptomatsko kliconoštvo prisutno je kod 3 - 8% (0,3% u Europi, 15% u Japanu) zdravih odraslih osoba. Tijekom hospitalizacije kliconoštvo je prisutno kod oko 20% bolesnika (15). Kako su infekcije uzrokovane *C. difficile* postale sve učestalije, a i klinički postaju teže, njihovo javnozdravstveno značenje postaje sve veće (16).

Porast smrtnosti od *C. difficile* koja se bilježi od 2000. godine povezuje se s pojavom hipervirulentnog soja *C. difficile* ribotip 027, za koji je karakteristična znatno jača produkcija toksina A i B, rezistencija na fluorokinolone i stvaranje binarnog toksina (17). Istovremeno je u Sjevernoj Americi sve veći broj oboljelih u dječjoj populaciji, gdje se bilježi preko 50% više oboljelih i to nevezano za antibiotsku terapiju (18, 19). Krajem 2002. godine u Kanadi je registrirana epidemija s neočekivano velikim brojem oboljelih, prisutna u 30-ak bolnica u pokrajini Quebec, uz ukupnu smrtnost od 6,9% (20, 21). Epidemija se širila od 2002. do 2005. godine, a zabilježena je 4,5 puta viša učestalost (156,3/100 000) u odnosu na učestalost 1991. godine (35,6/100 000) i gotovo pet puta viši mortalitet (od 4,5% 1991. godine na 22% 2004. godine) (20, 22). Procjenjuje se da u SAD-u godišnje umire 15 - 20 tisuća bolesnika zbog CDAD-a (23). I u nekim europskim državama praćen je porast učestalosti CDAD-a. Podaci su prikupljeni osnivanjem europske skupine za bakteriju *Clostridium difficile* 2002. godine. U prikupljanju podataka sudjelovale su Velika Britanija, Francuska, Nizozemska, Danska Njemačka, Španjolska, Belgija i Italija. Postojale su znatne razlike u učestalosti, a srednja vrijednost učestalosti bila je 11 slučajeva na 10 000 bolničkih prijema (24). Iako porast incidencije može biti i odraz poboljšane dijagnostike i prijave oboljelih, ipak je očigledno da je incidencija realno povećana.

1.5. Klinička slika

Klinička slika CDAD-a može biti šarolika. Bolest nastaje za vrijeme uzimanja antibiotika ili nekoliko dana do 6 tjedana nakon toga (9, 14). Dijarejom započinje bolest, stolica je u početku vodenasta, zatim sluzava, rjeđe s primjesom krvi. Javljaju se grčeviti bolovi u trbuhu, temperatura (38 - 38,5°C), dehidracija s gubitkom proteina i poremećaja elektrolita. U krvnoj slici obično je prisutna leukocitoza (2, 9). Rektosigmoidoskopski i kolonoskopski većinom postoji teža pseudomembranozna upala koja se može dokazati

patološki na bioptički dobivenom komadiću tkiva sluznice (9). Mogu nastati ozbiljne komplikacije kao hipovolemički šok, toksični megakolon, sepsa, perforacija crijeva i enteroragija (2, 9). Kod 45% bolesnika koji su imali jedan recidiv, CDI ponavlja se mjesecima pa čak i godinama (25). Rekurirajuće CDI nastaju zbog dvaju razloga: klijanja vegetativnih formi *C. difficile* iz zaostalih spora u kolonu (relaps) ili zbog infekcije novim sojem *C. difficile* (reinfekcija) (26, 27). Recidivi uzrokovani istim sojem javljaju se prosječno 14,5 dana nakon završenog liječenja CDI-a, a kod reinfekcije period do ponovnog oboljenja prosječno je oko 42,5 dana (28). Pacijenti s recidivom CDI-a imaju niže razine specifičnih IgM i IgG protutijela kao i fekalnog IgA na toksin A u odnosu na pacijente bez recidiva (29, 30).

1.6. Dijagnoza infekcija uzrokovanih *C. difficile*

Na dijagnozu treba posumnjati kod svakog bolesnika s proljevom koji je nastao unutar dva mjeseca nakon primjene antibiotika, ili unutar 72 h nakon primitka u bolnicu. Dijagnoza infekcije izazvane *C. difficile* postavlja se na osnovu kliničke slike (bolovi u truhu i dijareje), dokazanog prisustva bakterije ili njenih toksina ili histopatološkog dokazivanja PMC-a. Postoji nekoliko korisnih načina pregleda stolice u dokazivanju *C. difficile*. Koriste se uzgoj i izolacija iz stolice, dokazivanje citotoksina u stolici, lančana reakcija polimeraze (PCR), enzimumunokemijska metoda (EIA) i test stolice na glutamat dehidrogenazu.

Uzgoj i izolacija iz stolice smatra se standardnom dijagnostičkom metodom zbog svoje osjetljivosti od 94 - 100% i specifičnosti od 84 - 100%, međutim, zbog duljine trajanja pregleda i visoke cijene korištenje je u svakodnevnoj praksi ograničeno (31).

PCR smatra se standardnim alternativnim izborom u odnosu na kultivaciju iz stolice zbog svoje visoke osjetljivosti i specifičnosti. PCR, kojim se u stolici dokazuje prisustvo jednog ili obaju gena za produkciju toksina, nije u širokoj upotrebi zbog visoke cijene i zahtjeva za visoku tehničku opremljenost i stručnost.

Test stolice na glutamat dehidrogenazu po osjetljivosti jednak je s PCR-om (21, 32). Endoskopija kao dijagnostička metoda koristi se u slučajevima negativnog laboratorijskog nalaza i prisustva kliničkih simptoma, kada nema pozitivnog odgovora na antibiotski tretman (33).

Budući da samo sojevi *C. difficile* koji luče toksine izazivaju oboljenje, detekcija tih toksina u stolici je glavna laboratorijska metoda za dokazivanje uzročnika. Najčešće se

koristi metoda EIA, koja se temelji na antigenskoj detekciji toksina A i toksina B. Taj test ima specifičnost 98%, ali umjerene je osjetljivosti do 85%. Ukoliko je kod simptomatskih bolesnika test negativan, treba ga ponoviti nekom osjetljivijom metodom (32, 33, 34).

Značajno mjesto u dijagnostici ima i pravilno uzorkovanje materijala za mikrobiološku dijagnostiku. Potrebno je uzeti odgovarajuću, veću količinu tekuće ili kašaste stolice bolesnika s dijarejom prije uključivanja ciljane terapije i u roku od 2 sata dostaviti u mikrobiološki laboratorij. Ukoliko nije moguće, uzorak stolice može se čuvati na temperaturi od 2 do 8°C do 72 sata.

1.7. Liječenje

Pacijenti koji su asimptomatski nosioci *C. difficile* ne trebaju primati terapiju jer ne postoje podaci koji dokazuju da bi liječenje tih osoba spriječilo simptomatske infekcije. Prvi korak u liječenju CDI-a predstavlja prekid antimikrobne terapije ili promjenu antimikrobnog sredstva, zatim dijetu i rehidraciju. Kod nekih pacijenata ta je mjera dovoljna za zaustavljanje simptoma, te nema potrebe za farmakološkim liječenjem (9, 35).

1.7.1. Antimikrobno liječenje

Kod bolesnika s teškim proljevom i rizičnim čimbenicima za CDI, treba uvesti antibiotsku terapiju za CDI dok rezultati testiranja stolice ne budu gotovi. Prema zadnjim IDSA (eng. *Infectious Diseases Society of America*) smjernicama (2010) za liječenje CDI-a uglavnom se koriste dva antibiotika: metronidazol i vankomicin. Metronidazol je jeftin i učinkovit preparat koji se preporučuje za liječenje blage do umjerene CDI. Uobičajena doza je 3 x 500 mg u trajanju 10 - 15 dana. Povremeni neuspjesi liječenja metronidazolom porasli su s pojavom virulentnog soja *C. difficile* 027 (36, 37). Nuspojave su metronidazola mučnine, metalni okus u ustima, pečenje u jednjaku i periferna neuropatija, te se ovaj lijek ne preporučuje za primjenu kod djece ili kod žena u periodu trudnoće i laktacije (38). Vankomicin (per os) se koristi kao druga opcija zbog visoke cijene i zbog stvaranja rezistentnog enterokoka u bolničkim sredinama. Prema tim je smjernica kod pacijenata s teškim oblikom bolesti lijek izbora vankomicin. To su pacijenti s $> 15\ 000\ \text{L}/\mu\text{L}$, sa serumskim kreatininom 1,5 puta većim od normalnih vrijednosti, pacijenti u stanju šoka i s kliničkom slikom ileusa. Njima se preporučuje vankomicin per os 4 x 125 mg 10 - 15

dana. Kod pacijenata s ileusom ili toksičnim megakolonom preporučuje se vankomicin 4 x 500 mg per os ili putem nazofagične sonde, metronidazol 3 x 500 mg intravenski ili vankomicin rektalne klizme 4 x 500 mg i imunoglobulin 400 mg/kg intravenski (39, 40, 41, 42). Kod toksičnog megakolona, ileusa i perforacije potrebno je kirurško zbrinjavanje. Rekurirajuće CDI javljaju se podjednako nakon terapije metronidazolom kao i vankomicinom (43). Liječenje recidiva jednako je kao i u slučaju prve epizode infekcije, ali u trajanju od 21 dan. Umjesto vankomicina može se davati teikoplanin 2 x 100 mg p.o. Još je jedan antibiotik u liječenju CDI-a fidaksomicin, makrociklički antibiotik uskog spektra djelovanja protiv gram-pozitivnih aerobnih i anaerobnih bakterija, uključujući *C. difficile*. Fidaksomicin djeluje baktericidno, inhibira sintezu bakterijske RNA te sprječava nastajanje spora *C. difficile* in vitro. U kliničkom ispitivanju, nakon desetodnevne terapije, odgovor na terapiju bio je sličan terapiji vankomicinom, međutim znatno manje pacijenata u skupini liječenih fidaksomicinom imalo je recidiv bolesti (15,4% prema 25,3%) (21, 44). Desetodnevna je terapija fidaksomicinom 125 puta skuplja od terapije metronidazolom i 4 puta skuplja od terapije vankomicinom (7, 45). Fidaksomicin se uglavnom koristi kod bolesnika koji su imali više recidiva te u liječenju bolesnika koji imaju ozbiljnu alergijsku reakciju na oralni vankomicin (45).

1.7.2. Drugi antimikrobni lijekovi

S obzirom da kod navedenog liječenja uspijeh nije uvijek zajamčen te dolazi do pojave recidiva, primjenju se drugi antimikrobni lijekovi. Jedan od takvih je rifaksimim, derivat rifamicina, antibiotik širokog spektra djelovanja na gram-negativne i gram-pozitivne bakterije i ima odličan in vitro učinak na *C. difficile* (7, 46, 47). Međutim, postoji mogućnost razvoja rezistencije *C. difficile* i drugih crijevnih bakterija, stoga se taj antibiotik ne preporučuje kao monoterapija za CDI, ali se može koristiti za rekurentne infekcije nakon oralne primjene vankomicina, 4 x 125 mg tijekom dva tjedna ili da bi imao učinak „lovca“ na zaostale klice *C. difficile* u dozi od 2 x 400 mg tijekom dva tjedna (48, 49).

Nitazoksamid, antiprotozarno-antihelmintički je preparat koji je učinkovit i protiv *C. difficile* kao metronidazol i vankomicin. Koristi u terapiji kod pojave više epizoda recidiva koje su se pojavile unatoč terapiji metronidazolom i vankomicinom (50).

OPT-80 novi je makrociklički antibiotik koji ima uži spektar djelovanja na gram-pozitivne aerobne i anaerobne bakterije kod kojeg se može očekivati manji broj recidiva (51).

Od preparata koji vezuju toksine korišten je kolestiramin, anion-izmjenjivačka smola. Koristio se kao dodatno sredstvo antibioticima u liječenju CDI-a. Međutim, odustalo se od njegove primjene zbog mogućeg afiniteta za vankomicin i slabljenja afiniteta za toksin *C. difficile* (52, 53). Tolevamer je preparat vezač toksina koji je još u fazi ispitivanja (54).

1.7.3. Probiotici i prebiotici

Probiotici su pripremljeni, živi mikroorganizmi koji se unose u probavni trakt pacijenta s namjerom razmnožavanja u mikroflori kolona. Obnova sastava normalne crijevne flore alternativna je metoda za liječenje rekurirajućih CDI-a (55). Glavnu skupinu probiotskih pripravaka čini velika skupina bakterija označenih kao bakterije mliječne kiseline (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium* i *Streptococcus* spp), te apatogena gljiva *Saccharomyces boulardi* (52). Probiotici luče antimikrobne tvari, stimuliraju lučenje mucina, što sprječava vezanje patogenih bakterija za receptore, mogu pojačati aktivnost intestinalnog imunog sistema stimulirajući makrofage i NK-stanice, potiču proliferaciju limfocita i pojačavaju sekreciju imunoglobulina A (56). Najbolje rezultate u liječenju rekurirajućih CDI-a dobilo se u istraživanjima u kojima se koristila *S. boulardi* (7, 52).

Prebiotici su neprobavljivi sastavni dijelovi hrane, niskomolekularni ugljikohidrati koji potiču rast stanovitog broja korisnih bakterija, a inhibiraju rast štetnih bakterija. Nalaze se u nekom povrću, a proizvode se i industrijski. To su inulin, laktuloze, fruktooligosaharidi i sl. Daju se zajedno s probioticima da bi se postiglo simbiotsko djelovanje (57).

1.7.4. Fekalna transplantacija

Kod bolesnika koji ne reagiraju ni na koji tip liječenja preporučuje se fekalna transplantacija (rektalna instilacija, nazofagična infuzija ili pomoću kolonoskopa) (58, 59). Fekalna transplantacija koristi kompletnu normalnu humanu floru kao terapijsku probiotičku mješavinu živih mikroorganizama iz zdravog donora (putem tekuće suspenzije stolice) (58). Meta-analiza 27 studija koja je rađena na 317 bolesnika s recidivirajućim CDI-em koji su liječeni fekalnom transplantacijom pokazala ukupnu stopu uspjeha od 92% (61). Neophodna je provjera donora na prenosive zarazne bolesti, standardizacija pripremnih tehnika, procjena dugoročne sigurnosti i efikasnost fekalne transplantacije (62, 63).

1.8. Prevencija i mjere suzbijanja

Mjere sprječavanja širenja *C. difficile* u bolničkoj sredini zasnivaju se na poznavanju puteva prenošenja. 1995. godine pripremljene su prve preporuke za prevenciju i kontrolu CDI-a. Centri za prevenciju i kontrolu bolesti u Atlanti (CDC) izdali su preporuke za prevenciju širenja *C. difficile* u zdravstvenim ustanovama koje su obnovljene 2005. godine. Europski centar za prevenciju i kontrolu bolesti (*European Centre for Disease Prevention and Control – ECDC*) izdao je 2008. godine nove preporuke, a 2010. godine SHEA i IDSA izdali su najnovije preporuke (64).

Navedene mjere prevencije baziraju se na sljedećim preporukama:

- Reducirati faktore rizika za nastanak infekcija (racionalna primjena antibiotika).
- Izolirati sve pacijente sa sumnjom na CDI ili s potvrđenom infekcijom u jednokrevetne sobe s posebnim sanitarnim čvorom ili napraviti kohortnu izolaciju. U sobi za izolaciju treba postojati neophodna medicinska oprema koju će koristiti samo ti pacijenti (npr. toplomjer). Upotrebljene pidžame i posteljinu treba stavljati u plastične vreće u sobi pacijenata i paziti da se što manje rastresaju. Preporuka je da izolacija traje 48 h nakon uspostavljanja normalne stolice.
- Prilikom ulaska u sobu za izolaciju medicinsko osoblje i posjete trebali bi nositi rukavice i zaštitne mantile.
- Higijena ruku osnovna je mjera prevencije svih bolničkih infekcija, pa tako i CDI-a. S obzirom da alkohol ne djeluje na spore, preporučuje se pranje ruku vodom i tekućim sapunom nakon skidanja rukavica poslije njege bolesnika s CDI-em.
- Pranje i dezinfekcija površina: redovno prati sve površine u sobi za izolaciju (najmanje jednom dnevno) kao i ostale sobe na odjelima. Posebnu pažnju obratiti na površine koje pacijent dodiruje (ormariće, naslone kreveta, kvake, umivaonike, kade i dr.) i toalete. U tu svrhu najbolje je koristiti sredstva koja sadrže klor (bar 1000 ppm).
- Provoditi trajnu edukaciju zdravstvenih djelatnika, pacijenata i posjeta.
- Educirati osoblje koje radi na održavanju higijene bolničke sredine o pravilnom održavanju higijene bolničke sredine.
- Tim za nadzor nad bolničkim infekcijama mora biti obaviješten prilikom povećanja broja oboljelih od CDI-a.
- Ukoliko se javljaju novi slučajevi, bez obzira na primjenu mjera prevencije i suzbijanja infekcije, treba zatvoriti odjel i istražiti potencijalne rezervoare.

2. CILJEVI RADA

Ciljevi ovog rada su:

1. Ispitati učestalost dokaza toksina *C. difficile* kod bolesnika kod kojih je postavljena sumnja na infekciju uzrokovanu *C. difficile* na području Požeško-slavonske županije. U istraživanje će biti uključeni izvanbolnički kao i hospitalizirani bolesnici od 01. 01. 2012. g. do 31. 12. 2014. g.
2. Prikazati trendove učestalosti bolesnika s CDI-em u Požeško-slavonskoj županiji na godišnjoj razini u navedenom trogodišnjem razdoblju.
3. Prikazati raspodjelu oboljelih od CDI-a po odjelima OŽB Požega, s posebnim osvrtom na prethodnu antimikrobnu terapiju i dob bolesnika.
4. Ispitati utjecaj potrošnje antibiotika na nivou OŽB Požega u navedenom trogodišnjem razdoblju na učestalosti oboljelih od CDI-a.

3. ISPITANICI I METODE

Podaci o uzorcima i rezultatima testiranja dobiveni su iz elektronske baze podataka Odjela za kliničku mikrobiologiju Opće županijske bolnice Požega, gdje su tijekom promatranog razdoblja uzorci stolice obrađeni prema uobičajenom protokolu u skladu s pravilima struke, standardiziranom metodom testiranja.

3.1. Ispitanici

Ispitivanje je obuhvatilo vremensko razdoblje od 01. 01. 2012. do 31. 12. 2014. godine i provedeno je među izvanbolničkim i hospitaliziranim bolesnicima čiji su uzorci poslani na mikrobiološku obradu, te su obrađeni u laboratoriju Odjela za kliničku mikrobiologiju OŽB Požega. Uzorci koji su se analizirali jesu uzorci stolice uzeti bolesnicima koji su upućeni od strane nadležnog liječnika. U OŽB Požega ispitano je 728 ispitanika s područja Požeško-slavonske županije.

3.2. Metode rada

Svi uzorci stolice kod kojih je indicirano dokazivanje toksina *C. difficile* obrađeni su standardiziranom metodom, ELFA metodom na VIDAS instrumentu za dokaz *C. difficile* toksina A i B u skladu s pravilima struke i prema propisanom testnom protokolu. Podaci o uzorcima i rezultatima mikrobiološke pretrage dobiveni su iz elektronske baze podataka Odjela za kliničku mikrobiologiju OŽB Požega.

VIDAS *C. difficile* Toxin A i B (CDAB) automatizirani je test za upotrebu na VIDAS instrumentima za kvalitativnu detekciju *C. difficile* toksina A i toksina B u uzorcima stolice pomoću ELFA metode (eng. *Enzyme Linked Fluorescent Assay*). VIDAS *C. difficile* Toxin A i B (CDAB) služi kao pomoć u dijagnozi bolesti povezane s *C. difficile*. Princip je testa kombinacija dvostupanjskog sendvič enzimskog imunotesta s krajnjim očitavanjem fluorescencije na 450 nm. U slučaju da uzorak sadrži toksin A i toksin B, prisutni toksini u uzorku će se vezati s anti-toksin A protutijelima (kunićeva poliklonska) i anti-toksin B protutijelima (mišja monoklonska) kojima je obložena unutrašnjost SPR nastavka koji služe kao solidna faza testa jer je unutrašnjost nastavka obložena anti-*C. difficile* toksin A i toksin B

protutijelima. Imunoenzimski test provodi se u četiri faze i svaku fazu prati postupak ispiranja kojim se eliminiraju nevezane komponente (65).

3.3. Statistička obrada

Podaci definirani ciljevima istraživanja kao i rezultati provedenog ispitivanja prikazani su grafički i tabelarno te obrađeni deskriptivnom statistikom. Kategorijski podaci predstavljeni su apsolutnim i relativnim frekvencijama. Razlike kategorijskih varijabli testirane su Hi-kvadrat testom ili po potrebi Fischerovim egzaktnim testom. Razina značajnosti postavljena je na $\alpha = 0,05$. Podaci su statistički analizirani upotrebom informatičkog programa SPSS (inačica 16.0, SPSS Inc., Chicago, IL, SAD) i Microsoft Office Excel tabličnog kalkulatora.

4. REZULTATI

U ispitivanje je uključeno 728 ispitanika koji su bili upućeni na dokazivanje *C. difficile* toksin A i B od 01. 01. 2012. do 31. 12. 2014. godine na Odjelu za kliničku mikrobiologiju, OŽB Požega. Od toga 2012. g. bilo je 17 ispitanika, 2013. g. 199 ispitanika, a 2014. g. 512 ispitanika (Tablica 1).

Tablica 1. Raspodjela testiranih ispitanika na *C. difficile* toksin A i B u OŽB Požega od 01. 01. 2012. do 31. 12. 2014. godine

Ispitanici	Broj ispitanika	Pozitivni	Negativni
2012. g.	17	7 (41%)	10 (59%)
Hospitalizirani	10	6	4
Izvanbolnički	7	1	6
2013. g.	199	45 (23%)	154 (77%)
Hospitalizirani	135	30	105
Izvanbolnički	64	15	49
2014. g.	512	95 (19%)	417 (81%)
Hospitalizirani	397	71	326
Izvanbolnički	115	24	91
Sveukupno u promatranome periodu	728	147	581
Hospitalizirani	542	107	435
Izvanbolnički	186	40	146

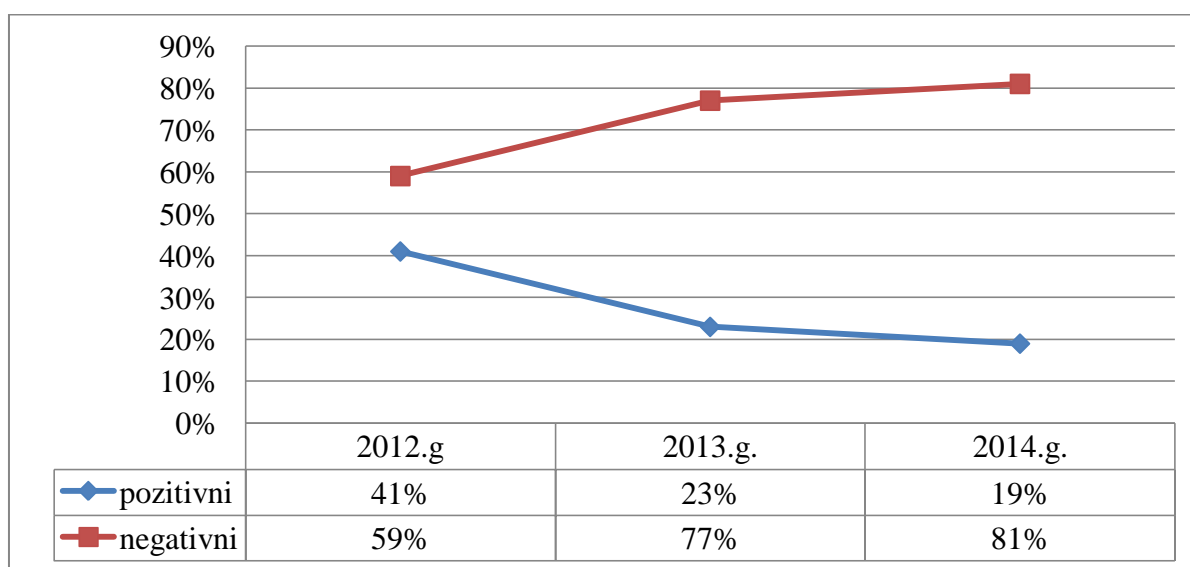
Statističkom analizom nije nađena značajna razlika između hospitaliziranih i izvanbolničkih pacijenata s obzirom na pozitivnost nalaza (Tablica 2). Međutim, gledano po godinama, značajan je porast negativnih nalaza kroz promatrani vremenski period.

Tablica 2. Raspodjela hospitaliziranih i izvanbolničkih pacijena s obzirom na pozitivnost testa i promatrani vremenski period

	Pozitivni/ n(%)	Negativni/ n(%)	p*
Proporcija pozitivnih i negativnih nalaza s obzirom na način bolničkog liječenja.			
Hospitalizirani	107 (72,8)	435 (74,9)	0,605
Izvanbolnički	40 (27,2)	146 (25,1)	
Proporcija pozitivnih i negativnih nalaza kroz promatrani vremenski period.			
2012	7 (4,8)	10 (1,7)	0,045
2013	45 (30,6)	154 (26,5)	
2014	95 (64,6)	417 (71,8)	
UKUPNO	147 (100,0)	581 (100,0)	

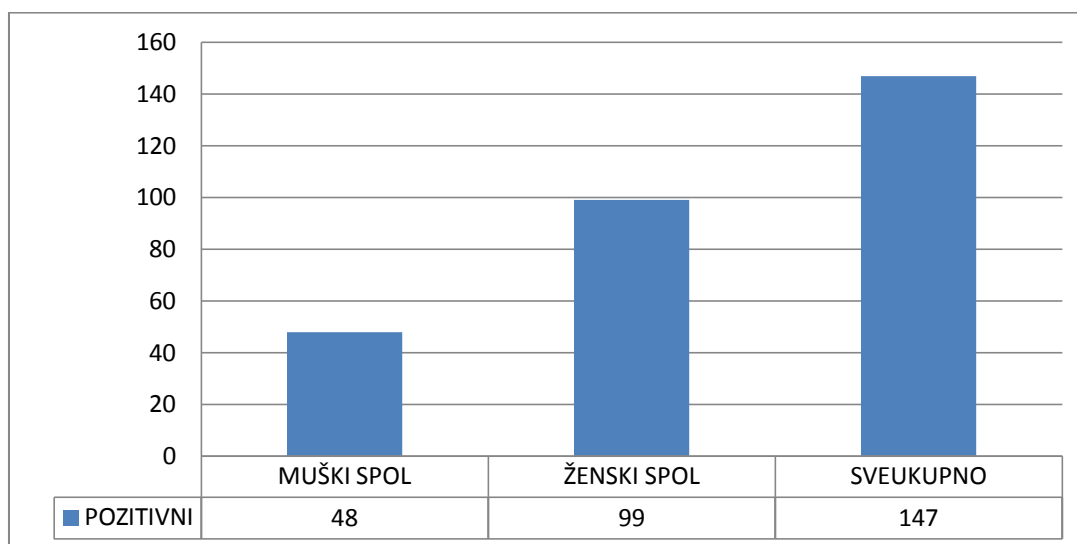
*Hi-kvadrat test

Uspoređujući rezultate ispitivanja na godišnjoj razini, može se primjetiti opadajući trend CDI-a u Požeško-slavonskoj županiji kroz navedeni trogodišnji period (Slika 1).



Slika 1. Raspodjela učestalosti bolesnika na godišnjoj razini u navedenom trogodišnjem razdoblju

Među pozitivnim pacijentima od njih 147 značajno je više pacijentica, njih 99 (67,3%) u usporedbi s 48 (32,7%) pacijenata ($p = 0,004$; Hi-Kvadrat test).



Slika 2. Raspodjela ispitanika pozitivnih na *C. difficile* toksin A i B u Požeško-slavonskoj županiji po spolu

Usporedbom proporcija pozitivnih ispitanika mlađih (21,1%), odnosno starijih od 65 godina (78,9%), uočena je statistički značajna razlika uz $p < 0,001$ (Hi-kvadrat test). Značajno je više onih pozitivnih ispitanika koji su stariji od 65 godina (Tablica 3).

Tablica 3. Raspodjela ispitanika pozitivnih na *C. difficile* toksin A i B u Požeško-slavonskoj županiji po starosnoj dobi od 01. 01. 2012. do 31. 12. 2014. godine

Starosna dob ispitanika	do 20 godina	20 - 40 godina	40 - 65 godina	više od 65 godina	Ukupno
Pozitivni ispitanici/ n(%)	1 (0,7)	6 (4,1)	24 (16,3)	116 (78,9)	147 (100,0)

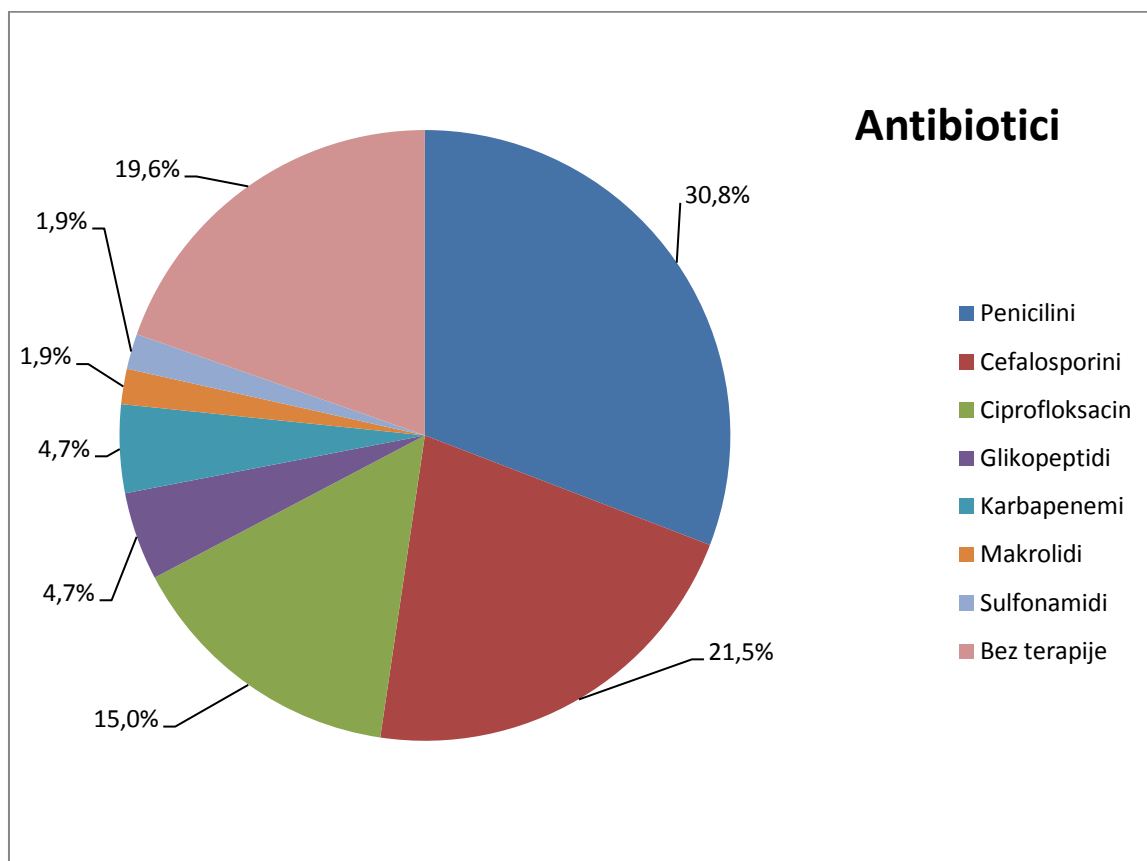
Usporedba ukupnog broja pozitivnih i negativnih ispitanika po odjelima u promatranome razdoblju pokazuje statistički značajnu razliku u proporcijama s obzirom na pojedini odjel. Na traumatologiji je nađeno najviše pozitivnih ispitanika, dok ih je najmanje nađeno na neurologiji (Tablica 4).

Tablica 4. Raspodjela bolničkih ispitanika na *C. difficile* toksin A i B u OŽB Požega po odjelima od 01. 01. 2012. do 31. 12. 2014. godine

Odjeli	Infekt.	Neuro.	Trauma.	Ortop.	Int.od.	Kard.	Op.kir.	Jil	Ostali odj.	p*
Pozitivni	33 (29,2)	6 (5,7)	31 (34,8)	7 (10,0)	16 (19,8)	3 (14,3)	3 (21,4)	3 (21,4)	5 (14,7)	<0,001
Negativni	80 (70,8)	100 (94,3)	58 (65,2)	63 (90,0)	65 (80,2)	18 (85,7)	11 (78,6)	11 (78,6)	29 (85,3)	
UKUPNO	113 (100,0)	106 (100,0)	89 (100,0)	70 (100,0)	81 (100,0)	21 (100,0)	14 (100,0)	14 (100,0)	34 (100,0)	

*Hi-kvadrat test

Analizom razdiobe ukupnog broja korištenih antibiotika kroz promatrani trogodišnji period nađeno je da se najčešće koristio penicilin (30,8 %) te da je značajna razlika u proporcijama korištenja pojedinih antibiotika (Slika 2).



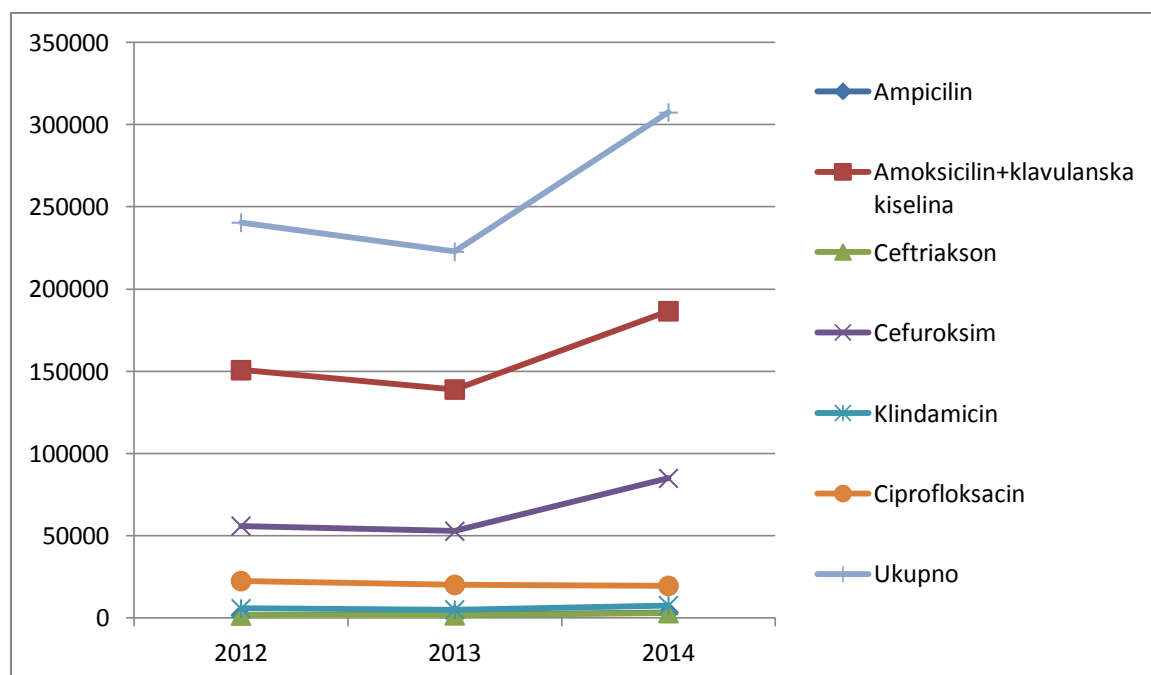
*Fisherov egzakti test ($p < 0,001$)

Slika 3. Raspodjela hospitaliziranih bolesnika pozitivnih na *C. difficile* toksin A i B s obzirom na korištenu antimikrobnu terapiju prije infekcije od 01. 01. 2012. do 31. 12. 2014. godine

Usporedbom vrste antibiotika, ciprofloksacin u usporedbi s ostalima, nađeno je da se ciprofloksacin koristio značajno rjeđe (8,2%) od ostalih antibiotika zajedno (Hi-kvadrat test; $p < 0,001$). Upotreba antibiotika kroz promatrani trogodišnji period prikazan je u Tablici 5 i Slici 4.

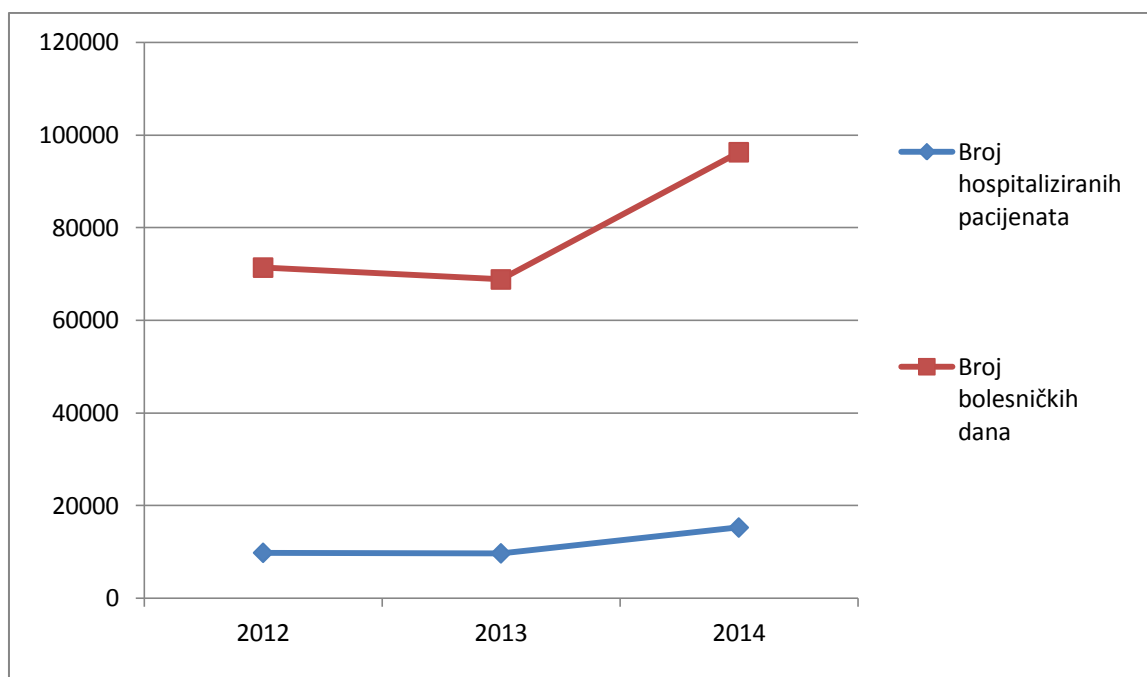
Tablica 5. Potrošnja antibiotika u OŽB Požega od 01. 01. 2012. do 31. 12. 2014. godine prikazana u obliku dnevno definirane doze (DDD)

ANTIBIOTICI	2012. godina DDD	2013. godina DDD	2014. godina DDD
Ampicilin	1797	1885	3425
Amoksicilin+ klavulanska kiselina	150756	139003	186607
Ceftriakson	1587	1727	3064
Cefuroksim	55991	52806	84977
Ciprofloksacin	22519	20201	19620
Klindamicin	5756	5088	7660



Slika 4. Potrošnja antibiotika u OŽB Požega od 01. 01. 2012. do 31. 12. 2014.

Statistički je značajan porast i broja hospitaliziranih pacijenata ($p < 0,001$; Hi-kvadrat test) i broja bolesničkih dana ($p < 0,001$; Hi-kvadrat test).



Slika 5. Raspodjela hospitaliziranih pacijenata i broj bolesničkih dana tijekom promatranog trogodišnjeg razdoblja.

5. RASPRAVA

U ovom radu ispitana je učestalost dokaza toksina *C. difficile* kod bolesnika kod kojih je postavljena sumnja na infekciju uzrokovanu *C. difficile* na području Požeško-slavonske županije. U ispitivanje su biti uključeni izvanbolnički kao i hospitalizirani bolesnici od 01. 01. 2012. g. do 31. 12. 2014. g. Provedeno ispitivanje obuhvatilo je 728 ispitanika koji su bili upućeni na dokazivanje *C. difficile* toksin A i B u navedenom trogodišnjem razdoblju na Odjelu za kliničku mikrobiologiju, OŽB Požega.

U 2012. godini od 17 ispitanika 7 (41%) je bilo pozitivno na *C. difficile* toksin A i B dok je 10 (59%) bilo negativno, 2013. godine od 199 ispitanika 45 (23%) je bilo pozitivno a 154 (77%) je bilo negativno i 2014. godine od 512 ispitanika 95 (19%) bilo je pozitivno i 417 (81%) negativno (Tablica 1). Statističkom analizom nije nađena značajna razlika između hospitaliziranih i izvanbolničkih pacijenata s obzirom na pozitivnost nalaza (Tablica 2). Međutim, gledano po godinama, značajan je porast negativnih nalaza kroz promatrani vremenski period.

Promatrajući učestalost dokaza toksina *C. difficile* u Požeško-slavonskoj županiji kroz navedeni trogodišnji period, može se uočiti opadajući trend. Za razliku od Požeško-slavonske županije, u nekoliko velikih epidemioloških studija u SAD-u, dokazano je da je incidencija bolničkih CDI-a porasla 2 - 2,5 puta od kasnih 1990-ih do ranih 2000-ih. Visoki porast incidencije CDI-a (4 puta za 13 godina) zabilježen je u Quebecu (21). Bolest je u porastu i u Europi. U razdoblju 2007/2008. godine registrirano je 55 502 oboljelih u Velikoj Britaniji. U Njemačkoj 2008. godine bilo je 58 000 oboljelih. Malo je podataka o učestalosti CDI-a u zemljama Jugoistočne Europe. U navedenoj studiji u Europi, postoje podaci za Bugarsku, Hrvatsku, Sloveniju i Grčku. Prosječne stope incidencije bolničkih infekcija CDAD-a kreću se od 3 na 10 000 hospitaliziranih pacijenata u Bugarskoj, 6 u Hrvatskoj, 19 u Sloveniji i 29 u Grčkoj (25). U Srbiji se također registrira porast broja oboljelih. U infektivnoj klinici u Beogradu, u razdoblju 2009. - 2010. godine od CDI-a liječeno je 250 bolesnika od kojih je 18 (7,2 %) umrlo (65).

Opadajući trend CDI-a u Požeško-slavonskoj županiji kroz navedeni trogodišnji period možemo objasniti sve češćim korištenjem probiotika uz antimikrobnu terapiju nakon što su

brojna ispitivanja pokazala pozitivno djelovanje na organizam tijekom terapije antibioticima jer su korisni za uspostavljanje narušene ravnoteže crijevne mikroflore.

Najdjelotvornije su mjere koje su zaslužne za opadajući trend CDI-a otvaranje Odjela za hospitalne infekcije u OŽB Požega, koji od 2013. godine aktivno provodi mjere sprječavanja hospitalnih infekcija u koje su uključeni i konstantna edukacija te kontrola svih zaposlenika. Među pozitivnim pacijentima od njih 147, značajno je više pacijentica njih 99 (67,3%) u usporedbi s 48 (32,7%) pacijenata (Slika 2). Takvi podaci upućuju na to da je spol pacijenta predisponirajući čimbenik za nastanak CDI-a, međutim dostupna literatura ne navodi takve podatke. Do sada nije dokazano da spol utječe na pojavnost CDI-a.

U trogodišnjem periodu ispitivanja na *C. difficile* toksin A i B od 728 ispitanika, 147 ispitanika bilo je pozitivno. Od svih pozitivnih ispitanika 1 je bio starosne dobi do 20 godina, 6 su bili od 20 - 40 godina, 24 ih je imalo od 40 - 65 godina dok je 116 ispitanika imao više od 65 godina (Tablica 3). Usporedbom proporcija pozitivnih ispitanika mlađih (21,1%), odnosno starijih od 65 godina (78,9%), uočena je statistički značajna razlika uz $p < 0,001$ (Hi-kvadrat test). Značajno je više onih pozitivnih ispitanika koji su stariji od 65 godina, što se navodi u literaturi kao rizični faktor za oboljevanje od CDI-a (1, 2, 3).

542 ispitanika bili su hospitalizirani pacijenti od kojih je 107 (20%) bilo pozitivno i 435 (80%) negativno na *C. difficile* toksin A i B. U Klinici za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“ u Zagrebu, rađena je retrospektivna analiza pacijenata koji su bili hospitalizirani od 01. 01. 2012. do 31. 06. 2013. godine. Od 217 bolesnika s postantimikrobnim proljevom, *C. difficile* kao uzročnik, dokazan je kod 161 (74%) bolesnika (66). Uspoređujući te rezultate s OŽB Požega možemo zaključiti da je pojavnost CDI-a u Požeško - slavonskoj županiji znatno niža.

Od 107 pozitivnih hospitaliziranih pacijenata, 33 liječena su na odjelu za infektologiju, 31 na traumatologiji, 7 na ortopediji, 6 na neurologiji, 16 na internoj 1, 2 i 3, po 3 na kardiologiji, općoj kirurgiji, jedinici intenzivnog liječenja i 5 pacijenata na ostalim odjelima (po 1 na abdominalnoj kirurgiji, psihijatriji, pulmologiji, urologiji i ginekologiji). Usporedba ukupnog broja pozitivnih i negativnih ispitanika po odjelima u promatranome razdoblju pokazuje statistički značajnu razliku u proporcijama s obzirom na pojedini odjel. Na traumatologiji je nađeno najviše pozitivnih ispitanika, dok ih je najmanje nađeno na neurologiji (Tablica 4). Razlog najvećeg broja pozitivnih ispitanika na odjelu traumatologije nismo ispitali, te tako

možemo samo pretpostaviti da mjere sprječavanja hospitalnih infekcija nisu dovoljno dobro provedene, zbog velikog broja pacijenata ili zbog malo osoblja.

Od 107 hospitaliziranih ispitanika koji su bili pozitivni na *C. difficile* toksin A i B unazad dva mjeseca prije infekcije njih 21 nije koristilo nikakvu antimikrobnu terapiju, 33 je koristilo penicilinske antibiotike, 23 cefalosporine, 16 fluorokinolone (ciprofloksacin), po 5 pacijenata koristilo je glikopeptide i karbapeneme i po 2 makrolide i sulfonamide. Analizom razdiobe ukupnog broja korištenih antibiotika kroz promatrani trogodišnji period dokazano je da se najčešće koristio penicilin (30,8%), te je uočena značajna razlika u proporcijama korištenja pojedinih antibiotika (Slika 3). 67,3% ispitanika koristilo je antibiotike (peniciline, cefalosporine i fluorokinolone), čija upotreba često uzrokuje nastanak CDI-a, kako navodi literatura (10). Za onih 19,6% koji nisu koristili nikakvu antimikrobnu terapiju, a imali su CDI trebalo bi provesti dodatno ispitivanje o uzroku CDI-a; postoji li možda neka teška bolest u pozadini ili je rađena neka invazivna pretraga crijeva, što literatura također navodi kao rizične faktore nastanka CDI-a (1, 2, 3).

Proučavanjem potrošnje antibiotika u OŽB Požega u navedenom trogodišnjem periodu, u 2013. godini uočena je smanjena potrošnja amoksicilin + klavulanske kiseline, cefuroksima, ciprofloksacina i klindamicina (Tablica 5 i Slika 3) kao i broj pozitivnih CDI-a. Smanjenje CDI-a možemo objasniti smanjenom potrošnjom upravo tih antibiotika koje literatura navodi kao one čija upotreba najčešće može uzrokovati nastanak CDI-a (10). U 2014. godini uočen je porast potrošnje svih antibiotika u odnosu na 2012. i na 2013. godine, osim ciprofloksacina koji i dalje prati trend opadanja potrošnje kao i smanjenje postotka nastanka CDI-a. Usporedbom vrste antibiotika, ciprofloksacin u usporedbi s ostalima, nađeno je da se ciprofloksacin koristio značajno rjeđe (8,2%) od ostalih antibiotika zajedno (Hi-kvadrat test; $p < 0,001$). Dakle možemo uočiti da je smanjena potrošnja ciprofloksacina doprinijela smanjenju nastanka CDI-a. Porast upotrebe drugih antibiotika kroz promatrani trogodišnji period prikazan je na slici 4.

U Požeško-slavonskoj županiji kroz navedeno trogodišnje razdoblje, broj hospitaliziranih pacijenata kao i broj bolesničkih dana kreće se u skladu s potrošnjom antibiotika. Na Slici 5 prikazana je raspodjela hospitaliziranih pacijenata i broj bolesničkih dana kroz promatrano trogodišnje razdoblje. Statistički je značajan i porast broja hospitaliziranih pacijenata ($p < 0,001$; Hi-kvadrat test) i broja bolesničkih dana ($p < 0,001$; Hi-kvadrat test).

Za sveobuhvatniji uvid u epidemiološke i kliničke osobitosti CDI-a, buduća istraživanja trebalo bi proširiti na način da se izvanbolnički pacijenti detaljnije ispituju. Bilo bi dobro provesti anketu pomoću upitnika, kako bismo dobili uvid i odgovore koji se odnose na potencijalne faktore rizika.

6. ZAKLJUČAK

Na temelju provedenog ispitivanja u Požeško-slavonskoj županiji, na Odjelu za kliničku mikrobiologiju može se zaključiti:

- Razlika između hospitaliziranih i izvanbolničkih pacijenata s obzirom na pozitivnost nalaza nije značajna; 27,2% ispitanika s pozitivnim nalazom na CDI nisu bili hospitalizirani, dakle, taj podatak govori da veliki udio infekcija uzrokovanih *C. difficile* nije bio vezan uz do sad potvrđene faktore rizika.
- Promatrajući učestalost izolacije toksina *C. difficile* u Požeško-slavonskoj županiji kroz navedeni trogodišnji period može se uočiti opadajući trend nastanka CDI-a.
- Značajno je više onih pozitivnih ispitanika koji su stariji od 65 godina (78,9%), što se navodi u literaturi kao rizični faktor za nastanak CDI-a.
- Rezultati provedenog ispitivanja ukazuju da je smanjena potrošnja ciprofloksacina doprinijela smanjenju nastanka CDI-a.

7. SAŽETAK

Ciljevi istraživanja: Ispitati učestalost dokaza toksina *C. difficile* kod bolesnika kod kojih je postavljena sumnja na infekciju uzrokovanu *C. difficile* na području Požeško-slavonske županije, prikazati trendove učestalosti bolesnika s CDI na godišnjoj razini od 01. 01. 2012. g. do 31. 12. 2014. g., prikazati raspodjelu oboljelih od CDI-a po odjelima OŽB Požega, s posebnim osvrtom na prethodnu antimikrobnu terapiju i dob bolesnika, te ispitati utjecaj potrošnje antibiotika na nivou OŽB Požega.

Nacrt studije: Retrospektivna studija

Ispitanici i metode: Ispitivanje je obuhvatilo 728 izvanbolničkih i hospitaliziranih ispitanika čiji su uzorci poslani na mikrobiološku obradu od strane nadležnog liječnika, te su obrađeni u laboratoriju Odjela za kliničku mikrobiologiju OŽB Požega standardiziranom metodom, ELFA metodom na VIDAS instrumentu za dokaz *C. difficile* Toxin A i B. Za utvrđivanje razlika među proporcijama između dvaju nezavisnih uzoraka koristio se χ^2 -test i Fisherov egzaktni test. Za ocjenu značajnosti dobivenih rezultata odabrana je razina značajnost $\alpha = 0,05$.

Rezultati: Statističkom analizom nije nađena značajna razlika između hospitaliziranih i izvanbolničkih pacijenata s obzirom na pozitivnost nalaza. Promatrajući učestalost CDI-a u Požeško-slavonskoj županiji kroz navedeni trogodišnji period može se uočiti opadajući trend, 2012. g. bilo je 41%, 2013. g. 23%, dok je 2014. g. pozitivnih ispitanika bilo 19%. U istom periodu smanjena je potrošnja ciprofloksacina, koji se koristio značajno rjeđe (8,2%) od ostalih antibiotika zajedno. Značajno je više pozitivnih ispitanika starijih od 65 godina (78,9%).

Zaključak: Opadajući trend nastanka CDI-a kroz navedeni trogodišnji period možemo obrazložiti smanjenom potrošnjom ciprofloksacina.

Ključne riječi: antibiotik; ciprofloksacin; *Clostridium difficile*; hospitalizirani bolesnici

8. SUMMARY

Objectives: To determine the frequency of isolated *C. difficile* toxins in patients infected with *C. difficile* in Požega Slavonia County; to show the yearly frequency trend of patients with CDI from 1st January 2012 to 31st December 2014, as well as to show the distribution of the CDI patients in different clinic departments of General County Hospital Požega. Special attention is given to the previous anti-microbe therapy and the age of patients. The research also studies antibiotics consumption at GCH Požega.

Study outline: retrospective study

Participants and methods: The research included 728 patients, both hospitalized and external. Their samples were sent to microbiological analysis by their doctors respectively at the Department of clinical microbiology of GCH Požega. The standardized method, ELFA method on VIDAS instrument for detecting *C. difficile* Toxins A and B was used to analyze the samples. χ^2 -test and Fisher's exact test were used to determine the difference between the proportions of two independent samples. Statistical significance was marked by $\alpha = 0.05$

Results: Statistical analysis did not show significant difference between the results of hospitalized and external patients considering the positivity of the tests. The frequency of isolated *C. difficile* toxins in Požega Slavonia County seems to be declining over the period of three studied years; in 2012 there were 41% of patients with CDI, in 2013 there were 23% of patients with CDI, and in 2014 there were 19% of patients with CDI. Ciprofloxacin was used significantly less (8.2%) than all of the other antibiotics. There is significantly higher number of CDI patients older than 65 years (78.9%).

Conclusion: The declining trend of CDI patients over the period of three studied years could be the result of reduced use of ciprofloxacin.

Key words: antibiotic, Ciprofloxacin, *Clostridium difficile*, hospitalized patients

9. LITERATURA:

1. Kuijper EJ, Coignard B. Emergence of *Clostridium difficile*-associated disease in north America and Europe. *Clinical Microbiology and Infectious disease* 2006; 12: 2-18.
2. Mlinarić-Galinović G., Ramljak-Šešo M., i sur. Specijalna medicinska mikrobiologija i parazitologija. Zagreb: Merkur A.B.D.;2003:438-443.
3. Kalenić S, Mlinarić- Missoni E i sur. Medicinska bakteriologija i mikologija; 2. Izdanje; MERKUR A.B.D., Zagreb, 2001.
4. Wilson KH. The microecology of *Clostridium difficile*. *Clin Infect Dis* 1993;16(Suppl4): 214-8.
5. McFarland LV, Stamm WE. Review of *Clostridium difficile* associated diseases. *Am J Infect Control* 1986: 14:99-109.
6. Borriello SP. Pathogenesis of *Clostridium difficile* infection. *J Antimicrob Chemother* 1998; 41(Suppl.C):13-9.
7. Khanna S, Pardi DS. *Clostridium difficile* infection: new insights into management. *Mayo Clin Proc* 2012; 87(11):1106-17.
8. Rupnik M, Kotnik Kevorkijan B, *Clostridium difficile*: ali postaja pogostejši tudi v Sloveniji? Uvodnik 108 JAMA—SI, junij 2009, letnik 17, št. 3.
9. Gerding DN, Young VB. *Clostridium difficile* infection. U: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, ur. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 8. izd. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2015: 2744–56.
10. Lyerly D, *Clostridium difficile*: Its Diseases and Toxins. *Clin. Micro. Reviews*. 1988; 1:1-18.
11. Peterson LR, Laboratory methods for the diagnosis of *C. difficile*- related gastrointestinal disease. *Lab. Management*. 1989; 42-45.
12. Kuijper EJ, Coignard B, Tull P. and ESCMID Study Group for *Clostridium difficile* EU Member States and the European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Emergence of *Clostridium difficile* associated disease in North America and Europe. *Clin Microbiol Inf Dis* 2006;12 (Suppl 6):1-17.
13. Vonberg RP, Kuijper EJ, Wilcox MH, Barbut F, Tull P and European *C. difficile*- Infection control Group and the European Centre for Disease Prevention and Control

- (ECDC). Infection control measures to limit the spread of *Clostridium difficile*: conclusions from the literature. *Clin Microbiol Inf Dis* 2008;14 (Suppl 5):1- 19.
14. Fekety R, Shah AB. Diagnosis and treatment of *C. difficile* colitis. *JAMA* 1993; 269: 71-5.
 15. Ricciardi R, Rothenberg DA, Madoff RD, Baxter NN. Increasing prevalence and severity of *Clostridium difficile* colitis in hospitalized patients in United States. *Arch Surg* 2007;142(7):624-3.
 16. Kelly CP, LaMont JT. *Clostridium difficile*-more difficult than ever. *N Engl J Med* 2008; 359: 1932–40.
 17. Stabler RA, Dawson LF, Phua LT, Wren BW. Comparative analysis of BI/NAP1/027 hypervirulent strains reveals novel toxin B-encoding gene (*tcdB*) sequences. *J Med Microbiol* 2008; 57: 771–5.
 18. Zilberberg MD, Shorr AF, Kollef MH. Increase in *Clostridium difficile*- related hospitalizations among infants in the United States, 2000–2005. *Pediatr Infect Dis J* 2008; 27(12): 1111–3.
 19. Warny M, Pepin J, Fang A, i sur. Toxin production by an emerging strain of *Clostridium difficile* associated with outbreaks of severe disease in North America and Europe. *Lancet* 2005; 366(9491): 1079–84.
 20. Pepin J, Valiquete L, Alary ME, Villemure P, Pelletier A, Forget K, et al. *Clostridium difficile*-associated diarrhea in a region of Quebec from 1991 to 2003: A changing pattern of disease severity. *CMAJ*. 2004;171 (5):466-72.
 21. Khanna S, Pardi DS, Aronson SL et al. The epidemiology of community-acquired *Clostridium difficile* infection: a population-based study. *Am J Gastroenterol*. 2012; 107(1):150. [published correction in] 2011;107(1):89–95.
 22. Pepin J, Valiquette L, Cossette B. Mortality attributable to nosocomial *Clostridium difficile* associated disease during an epidemic caused by a hypervirulent strain in Quebec. *CMAJ*.2005;173:1037-1042.
 23. Rupnik M, Wilcox MH, Gerding DN. *Clostridium difficile* infection:new developments in epidemiology and pathogenesis. *Nat Rev Mikrobiol*. 2009;7:526-36.
 24. Barbut F, Delmme M, Brazier JS, Petit JC, Poxton IR, Rupnik M, Lalande V, Schneider C, Mastrantonio P, Alonso R, Kuipjer E, Tvede M. a European survey of diagnostic methods and testing protocols for *Clostridium difficile*. *Clin Microbiol Infect*. 2003;9:989-996.

25. Crabtree TD, Pelletier SJ, Gleason TG, Pruett TL, Sawyer RG. Clinical characteristics and antibiotic utilization in surgical patients with *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Am Surg* 1999; 65: 507–11.
26. Barbut F, Richard A, Hamadi K, Chomette V, Burghoffer B, Petit JC. Epidemiology of recurrences or reinfections of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 2386–8.
27. Tang-Feldman Y, Mayo S, Silva Jr J Jr, Cohen SH. Molecular analysis of *Clostridium difficile* strains isolated from 18 cases of recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 3413–4.
28. Johnson S, Adelman A, Clabots CR, Peterson LR, Gerding DN. Recurrences of *Clostridium difficile* diarrhea not caused by the original infecting organism. *J Infect Dis* 1989; 159: 340–3.
29. Warny M, Vaerman JP, Avesani V, Delmée M. Human antibody response to *Clostridium difficile* toxin A in relation to clinical course of infection. *Infect Immun* 1994; 62: 384–9.
30. Kyne L, Warny M, Qamar A, Kelly CP. Association between antibody response to toxin A and protection against recurrent *Clostridium difficile* diarrhoea. *Lancet* 2001; 357: 189–93.
31. Kufelnicka AM, Kirn TJ. Effective utilization of evolving methods for the laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis* 2011; 52(12):1451–1457.
32. Peterson LR, Mehta MS, Patel PA et al. Laboratory testing for *Clostridium difficile* infection: light at the end of the tunnel. *Am J Clin Pathol* 2011; 136(3):372–380.
33. Ciaran K, LaMont T, *Clostridium difficile* in adult: Clinical manifestation and diagnosis. UpToDate. [http://www.uptodate.com/contents/clostridium-difficile-in-adults-clinical-manifestations-and-diagnosis?source=see_link].
34. BIOMERIUX SA; VIDAS *C. difficile* Toxin A& B (CDAB), upute
35. Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, et al.; Society for healthcare epidemiology of America; Infectious Diseases Society of America. Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults: 2010 update by the Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) and the Infectious Diseases Society of America (IDSA). *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2010; 31(5):431-455.
36. Musher DM, Aslam S, Logan N, i sur. Relatively poor outcome after treatment of *Clostridium difficile* colitis with metronidazole. *Clin Infect Dis* 2005; 40: 1586–90.

37. Lagrotteria D, Holmes S, Smieja M, Smaill F, Lee C. Prospective, randomized inpatient study of oral metronidazole versus oral metronidazole and rifampin for the treatment of primary episode of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Clin Infect Dis* 2006; 43:547–52.
38. Pépin J, Valiquette L, Alary ME et al. *Clostridium difficile*-associated diarrhea in a region of Quebec from 1991 to 2003: a changing pattern of disease severity. *CMAJ* 2004; 171(5):466–472.
39. Apisarnthanarak A, Razavi B, Mundy LM. Adjunctive intracolonic vancomycin for severe *Clostridium difficile* colitis: case series and review of the literature. *Clin Infect Dis*.2002; 35(6):690-696.
40. Pepin J, Alary ME, Valiquette L, i sur. Increasing risk of relapse after treatment of *Clostridium difficile* colitis in Quebec, Canada. *Clin Infect Dis* 2005; 40: 1591–7.
41. Fernandez A, Anand G, FriedenberG F. Factors associated with failure of metronidazole in *Clostridium difficile*-associated disease. *J Clin Gastroenterol* 2004; 38: 414–8.
42. Yoo J, Lightner AL. *Clostridium difficile* Infections: What Every Clinician Should Know. *Perm J* 2010; 14: 35–40.
43. Zar FA, Bakkanagari SR, Moorthi KM, Davis MB. A comparison of vancomycin and metronidazole for the treatment of *Clostridium difficile*-associated diarrhea, stratified by disease severity. *Clin Infect Dis* 2007; 45: 302–7.
44. Cornely OA, Crook DW, Esposito R et al. OPT-80-004 Clinical Study Group [Collaborators (82)] Fidaxomicin versus vancomycin for infection with *Clostridium difficile* in Europe, Canada, and the USA: a double-blind, non-inferiority, randomised controlled trial. *Lancet Infect Dis* 2012; 12(4):281–289.
45. DuPont HL. Diagnosis and management of *Clostridium difficile* infection. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013; 11: 1216–23.
46. Pardi DS, Brennan R, Spinnell M et al. The efficacy and safety of rifaximin vs. vancomycin in the treatment of mild to moderate *C. difficile* infection: a randomized double-blind active comparator trial. *Gastroenterology* 2012; 142(5):S-599.
47. Kokkotou E, Moss AC, Michos A, i sur. Comparative efficacies of rifaximin and vancomycin for treatment of *Clostridium difficile*-associated diarrhea and prevention of disease recurrence in hamsters. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52:1121–6.

48. Curry SR, Marsh JW, Shutt KA, i sur. High frequency of rifampin resistance identified in an epidemic *Clostridium difficile* clone from a large teaching hospital. *Clin Infect Dis* 2009; 48: 425–9.
49. Musher DM, Logan N, Bressler AM, Johnson DP, Rossignol JF. Nitazoxanide versus vankomicin in *Clostridium difficile* infection: a randomized, double-blind study. *Clin Infect Dis* 2009; 48(4):e41–e46.
50. Musher DM, Logan N, Bressler AM, Johnson DP, Rossignol JF. Nitazoxanide versus vancomycin in *Clostridium difficile* infection: a randomized, double-blind study. *Clin Infect Dis* 2009; 48: e41–6.
51. Gerber M, Ackermann G. OPT-80, a macrocyclic antimicrobial agent for the treatment of *Clostridium difficile* infections: a review. *Expert Opin Investig Drugs* 2008; 17: 547–53.
52. Pépin J, Valiquette L, Alary ME et al. *Clostridium difficile*-associated diarrhea in a region of Quebec from 1991 to 2003: a changing pattern of disease severity. *CMAJ* 2004; 171(5):466–472.
53. Taylor NS, Bartlett JG. Binding of *Clostridium difficile* cytotoxin and vankomicin by anion-exchange resins. *J Infect Dis* 1980; 141(1):92–97.
54. Baines SD, Freeman J, Wilcox MH. Tolevamer is not efficacious in the neutralization of cytotoxin in a human gut model of *Clostridium difficile* infection. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53: 2202–4.
55. Aas J, Gessert CE, Bakken JS. Recurrent *Clostridium difficile* colitis: case series involving 18 patients treated with donor stool administered via a nasogastric tube. *Clin Infect Dis* 2003;36:580-5.
56. Madsen KL. The use of probiotics in gastrointestinal disease. *Can J Gastroenterol* 2001; 15: 817–22.
57. Hayakawa K, Mizutani J, Wada K i sur. Effects of soybean oligosaccharides on human faecal microflora. *Microb Ecol Heath Dis* 1990; 3: 293–303.
58. Borody TJ, Warren EF, Leis SM, Surace R, Ashman O, Siarakas S. Bacteriotherapy using fecal flora: toying with human motions. *J Clin Gastroenterol* 2004; 38(6): 475–83.
59. Russell G, Kaplan J, Ferraro M, Michelow IC. Fecal bacteriotherapy for relapsing *Clostridium difficile* infection in a child: a proposed treatment protocol. *Pediatrics* 2010; 126: e239–42.

60. Khoruts A, Dicksved J, Jansson JK, Sadowsky MJ. Changes in the composition of the human fecal microbiome after bacteriotherapy for recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *J Clin Gastroenterol* 2010; 44: 354–60.
61. Mattila E, Uusitalo-Seppälä R, Wuorela M et al. Fecal transplantation, through colonoscopy, is effective therapy for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Gastroenterology* 2012; 142(3):490–496.
62. Bakken JS, Borody T, Brandt LJ et al. Fecal Microbiota Transplantation Workgroup Treating *Clostridium difficile* infection with fecal microbiota transplantation. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011; 9(12):1044–1049.
63. E. Schutze, Rodney E, Willoughby, Gordon Jr. Policy offers recommendations on managing *C. difficile* infections in pediatric patients. *AAP News* [serial on internet]. 2013; 34:1.pp1. Available from: <http://aapnews.aappublications.org/content/34/1/1.2>
64. Pepin J, Valiquette L, Cossette B. Mortality attributable to nosocomial *Clostridium difficile* associated disease during an epidemic caused by a hypervirulent strain in Quebec. *CMAJ* 2005; 173:1037–42.
65. Opavski N. Mikrobiološka dijagnostika infekcija izazvanih *Clostridium difficile*. *Medicinska istraživanja* 2011; 45(5): 45-46.
66. Čivljak R, Bukovski S, Bambir I, i sur. Postantimikrobni proljev i *Clostridium difficile*. *Infektološki glasnik*. 2014;34:3:133-143.

10. ŽIVOTOPIS

SANJA MARTIN

OPĆI PODACI

Datum i mjesto rođenja: 08. ožujka 1969. godine, Požega

Adresa stanovanja: Buk 2, 34310 Pleternica

Kontakt: telefon 034 268-025

mobitel: 098 9412 410, e-mail: sanja.martin@hotmail.com

ŠKOLOVANJE

1983. godine – završila osnovnu školu u Požegi

1987. godine - završila srednju medicinsku školu u Tuzli, smjer medicinsko laboratorijski tehničar

2010. godine - upisala Sveučilišni preddiplomski studij biomedicinsko laboratorijskih tehnologija na Medicinskom fakultetu u Osijeku

2013. godine – upisala Sveučilišni diplomski studij medicinske laboratorijske dijagnostike na Medicinskom fakultetu u Osijeku

ZAPOSLENJE

1987. godine - zapošljava se u OŽB Požega, Odjelu za mikrobiologiju i parazitologiju i ima 28 godina staža

1990. godine - položila stručni ispit u Požegi za zdravstvenog tehničara laboratorijskog smjera

2014. godine - položila stručni ispit u Zagrebu za prvostupnika medicinske laboratorijske dijagnostike

11. PRILOZI

OPĆA ŽUPANIJSKA BOLNICA POŽEGA

POŽEGA, Osječka 107

Ur. broj: 02-7/39-5/1-4-2015

Datum: 9. srpnja 2015. godine

Na temelju članka 69. Zakona o zdravstvenoj zaštiti (NN br. 150/2008, 71/2010, 139/2010, 22/2011, 84/2011, 12/2012, 35/2012 – Odluka USRH, 70/2012, 144/2012, 82/2013, 159/2013-Uredba, 22/2014- Odluka USRH i 154/2014 - Uredba), članka 37. Statuta Opće županijske bolnice Požega i članka 19. i članka 23. Poslovnika o radu Etičkog povjerenstva Opće županijske bolnice Požega, sukladno Odluci Sanacijskog vijeća Opće županijske bolnice Požega, urbroj: 01-51/17-1/16-1-2014 od dana 24. listopada 2014. godine, na tridesetdevetoj sjednici Etičkog povjerenstva Opće županijske bolnice Požega, održanoj dana 9. srpnja 2015. godine, jednoglasno je donesena sljedeća

ODLUKA

Etičko povjerenstvo Opće županijske bolnice Požega **ne nalazi etičkih zapreka i suglasno je s provedbom istraživanja** u Općoj županijskoj bolnici Požega „*Utjecaj antibiotika u nastanku infekcija uzrokovanih Clostridium difficile*“, predlagateljice Sanje Martin, univ. bacc. med. lab. diagn., zaposlene u Općoj županijskoj bolnici Požega, Odjelu za kliničku mikrobiologiju, a za potrebe diplomskog rada na sveučilišnom diplomskom studiju medicinsko laboratorijske dijagnostike Medicinskog fakulteta u Osijeku, Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, pod mentorstvom doc.dr.sc. Domagoja Drenjančević, predsjednika Katedre za mikrobiologiju i parazitologiju Medicinskog fakulteta u Osijeku.

Etičko povjerenstvo pri donošenju suglasnosti iz stavka 1. ove odluke razmatralo je:

- zamolbu predlagateljice od dana 7. srpnja 2015. godine, zaprimljenu dana 7. srpnja 2015. godine pod brojem: 01-1922/1-2015, s
- planom provedbe istraživanja: uvodni dio, predviđeno trajanje istraživanje, očekivani početak-završetak, ustanova u kojoj bi se provodilo istraživanje, populacija, starosna dob ispitanika, metode rada, cilj rada, sažetak, način korištenja i iskazivanja podataka bez naznake osobnih podataka i mogućnosti zlouporabe podataka te bez kontakta s pacijentima.

Etičko povjerenstvo Opće županijske bolnice Požega izjavljuje da je njegov sastav i rad sukladan dobroj kliničkoj praksi, važećim zakonima i propisima u Republici Hrvatskoj i Poslovniku o radu Etičkog povjerenstva Opće županijske bolnice Požega.

Prilog i sastavni dio ove odluke je popis članova i zamjenika članova Etičkog povjerenstva Opće županijske bolnice Požega koji su jednoglasno donijeli ovu odluku.

Predsjednik Etičkog povjerenstva
Opće županijske bolnice Požega:
Prim. Ljubo Begić, dr. med.

OPĆA ŽUPANIJSKA BOLNICA POŽEGA
POŽEGA, Osječka 107
Ur. broj: 02-7/39-5/1-4-P-2015
Datum: 9. srpnja 2015. godine

Temeljem članka 69. Zakona o zdravstvenoj zaštiti (NN br. 150/2008, 71/2010, 139/2010, 22/2011, 84/2011, 12/2012, 35/2012 – Odluka USRH, 70/2012, 144/2012, 82/2013, 159/2013-Uredba, 22/2014- Odluka USRH i 154/2014 - Uredba), članka 37. stavka 7. Statuta Opće županijske bolnice Požega i članka 3. i članka 9. Poslovnika o radu Etičkog povjerenstva Opće županijske bolnice Požega, sukladno Odluci Sanacijskog vijeća Opće županijske bolnice Požega, urbroj: 01-51/17-1/16-1-2014 od dana 24. listopada 2014. godine i stavku 4. Odluke Sanacijskog vijeća Opće županijske bolnice Požega, urbroj: 02-7/39-5/1-4-2015, od dana 9. srpnja 2015. godine s tridesetdevete sjednice Etičkog povjerenstva Opće županijske bolnice Požega, održane dana 9. srpnja 2015. godine, daje se

POPIS

članova i zamjenika članova Etičkog povjerenstva Opće županijske bolnice Požega koji su jednoglasno donijeli Odluku ur. broj: 02-7/39-5/1-4-2015, od dana 9. srpnja 2015. godine:

- Damir Ronko, dipl.iur., sudac Općinskog suda u Požegi – zamjenik člana,
- Doc.dr.sc. Zdravko Kolundžić, mag. logoped - član,
- Prim. Ljubo Begić, dr. med. spec. opće kirurgije, uže spec. digestivne (abdominalne) kirurgije – predsjednik,
- Mr.sc. Vladimir Dujmović, dr. med. spec. interne medicine, uže spec. kardiologije – zamjenik člana,
- Prim.mr. Marijana Tomić Rajić, dr. med. spec. pedijatrije, uže spec. pedijatrijske neonatologije – član,
- Mr.sc. Božidar Njavro, dr.med. spec. ginekologije i opstetricije, uže spec. uroginekologije – zamjenik člana i
- Sanja Mjertan, mag. iur. – član.

Ovaj popis članova i zamjenika članova Etičkog povjerenstva Opće županijske bolnice Požega, prilog je i sastavni dio Odluke ur.broj: 02-7/39-5/1-4-2015, od dana 9. srpnja 2015. godine.

Predsjednik Etičkog povjerenstva
Opće županijske bolnice Požega:
Prim. Ljubo Begić, dr. med.