

UNIVERZITET U BEOGRADU  
MEDICINSKI FAKULTET

Dr Nataša A. Popović

ISPITIVANJE EFIKASNOSTI PERORALNO  
PRIMENJENOG TEIKOPLANINA U  
FARMAKOTERAPIJI TEŠKIH,  
KOMPLIKOVANIH I REFRAKTARNIH  
OBLIKA *CLOSTRIDIUM DIFFICILE*  
INFEKCIJE

DOKTORSKA DISERTACIJA

Beograd, 2018. godine

UNIVERSITY OF BELGRADE  
MEDICAL FACULTY

Dr Nataša A. Popović

THE ASSESSMENT OF EFFICACY OF  
ORAL TEICOPLANIN IN  
PHARMACOTHERAPY OF SEVERE,  
COMPLICATED AND REFRACTORY  
*CLOSTRIDIUM DIFFICILE* INFECTION

DOCTORAL DISSERTATION

Belgrade, 2018

**MENTOR:**

**Prof. dr Miloš Korać**, vanredni profesor, Klinika za infektivne i tropske bolesti, Klinički centar Srbije, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

**KOMENTOR:**

**Prof. dr Zorica Nešić**, vanredni profesor, Institut za farmakologiju, kliničku farmakologiju i toksikologiju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

**ČLANOVI KOMISIJE:**

**Prof. dr Ljiljana Gojković-Bukarica**, redovni profesor, Institut za farmakologiju, kliničku farmakologiju i toksikologiju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

**Doc. dr Ivana Milošević**, docent, Klinika za infektivne i tropske bolesti, Klinički centar Srbije, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

**Prof. dr Nataša Katanić**, redovni profesor, Klinika za infektivne i tropske bolesti, Klinički centar Srbije, Medicinski fakultet, Univerzitet u Prištini sa sedištem u Kosovskoj Mitrovici

**Datum odbrane:** \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_

## ZAHVALNICA

*Zahvaljujem se od srca mom mentoru Prof. dr Milošu Koraću na ukazanom poverenju, savetima, nesebičnoj pomoći i velikom razumevanju prilikom izrade ove doktorske disertacije. Bez njegove ideje ovaj rad ne bi ni nastao.*

*Na velikoj pomoći, podršci i zalaganju zahvaljujem se i komentoru Prof. dr Zorici Nešić.*

*Hvala i svim kolegama i prijateljima koji su mi na različite načine olakšali proces izrade doktorata.*

*I na kraju, zahvaljujem se mojoj porodici bez koje sve ovo ne bi imalo smisla...*

**ISPITIVANJE EFIKASNOSTI PERORALNO PRIMENJENOG TEIKOPLANINA  
U FARMAKOTERAPIJI TEŠKIH, KOMPLIKOVANIH I REFRAKTARNIH  
OBILICA *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* INFEKCIJE**

**REZIME**

**UVOD:** *Clostridium difficile* je najčešći uzročnik postantibiotske dijareje i pseudomembranoznog kolitisa. Nekada sporadična infekcija, poslednjih petnaest godina dobija razmere globalne epidemije i postaje jedna od vodećih intrahospitalnih infekcija u svetu i značajan uzrok smrti naročito među starijima od 65 godina. Porast broja obolelih, kao i sve veći broj bolesnika sa teškom kliničkom slikom i komplikacijama te sve češća pojava recidiva i slučajeva refraktarnih na standardnu terapiju vezuju se za razvoj hipervirulentnog soja bakterije, NAP1/BI/027. Spekter kliničkih obilica *C. difficile* infekcije obuhvata blagu do umerenu bolest u vidu dijareje bez kolitisa, tešku i tešku komplikovanu formu koja se karakteriše pojavom ileusa, toksičnog megakolona, hipotenzije sa primenom vazopresora, organskom disfunkcijom, izmenjenim mentalnim statusom, leukocitozom  $\geq 35000/\text{mm}^3$  ili leukopenijom  $< 2000/\text{mm}^3$ .

Glavni problem u svakodnevnom kliničkom radu sa obolelima od *C. difficile* infekcije predstavlja velika učestalost recidiva bolesti, kao i sve češća pojava refraktarnih slučajeva. Standardnu terapiju *C. difficile* infekcije čine metronidazol i vankomicin, a poslednjih godina i fidaksomicin, čijim primenom je samo delimično smanjen rizik od recidiva. U ranije sprovedenim istraživanjima o primeni teikoplanina u lečenju *C. difficile* infekcije teikoplanin se pokazao kao uspešan, međutim, ova istraživanja su sprovedena u vreme pre pojave hipervirulentnog soja i „epidemije“ *C. difficile* infekcije i obuhvatala su mali broj ispitanika.

**CILJ:** Cilj ovog istraživanja bio je da se ispita i uporedi ishod *C. difficile* infekcije kod bolesnika sa teškom formom bolesti lečenih teikoplaninom i vankomicinom u pogledu postignutog procenta kliničkog izlečenja, vremena od početka terapije do prestanka proliva, smrtnosti kao i učestalosti recidiva nakon 8 nedelja praćenja. Drugi cilj je bio da se utvrdi efikasnost peroralno primenjenog teikoplanina (u pogledu kliničkog izlečenja, smrtnosti, vremena od početka primene teikoplanina do prestanka proliva i učestalosti recidiva) u

lečenju bolesnika kod kojih je nakon 10-14 dana standardne terapije izostalo kliničko izlečenje. Cilj je bio i da se utvrdi učestalost različitih ribotipova *C. difficile* u ispitivanoj populaciji.

**BOLESNICI I METODE:** Istraživanje je sprovedeno kao prospektivna opservaciona kohortna studija u periodu od 1. avgusta 2013. do 31. jula 2015. godine u Klinici za infektivne i tropske bolesti Kliničkog centra Srbije. Ciljnu grupu činili su svi bolesnici sa dokazanom *C. difficile* infekcijom stacionarno lečeni u Odeljenju crevnih infekcija Klinike za infektivne i tropske bolesti Kliničkog centra Srbije. U istraživanje su uključeni odrasli bolesnici sa dokazanom *C. difficile* infekcijom koji su zadovoljili kriterijume za tešku ili refraktarnu formu bolesti, sa prvom epizodom ili prvim recidivom infekcije. Iz istraživanja su isključeni bolesnici sa lakom i umereno teškom infekcijom, oni sa drugim i svakim sledećim recidivom zbog drugačijeg protokola lečenja, bolesnici sa pridruženim bolestima creva koje same po sebi mogu dovesti do proliva, neposredno životno ugroženi pri prijemu jer su svi takvi lečeni isključivo vankomicinom, kao i bolesnici sa alergijom na glikopeptide. Bolesnici kod kojih je naknadno otkrivena pridružena bolest creva, oni izgubljeni tokom perioda praćenja kao i bolesnici koji su u tom periodu bili hospitalizovani u drugoj ustanovi gde je postojala mogućnost reinfekcije, naknadno su isključeni iz istraživanja. Istraživanje je podeljeno u tri dela.

U prvom delu istraživanja pokazane su i upoređivane demografske, kliničke i laboratorijske karakteristike bolesnika sa teškom *C. difficile* infekcijom lečenih teikoplaninom i vankomicinom, a takođe je učinjena i analiza ribotipova. U drugom delu istraživanja prikazan je i upoređen ishod teške *C. difficile* infekcije između bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom u pogledu procenta postignutog kliničkog izlečenja, vremena do prestanka proliva, smrtnosti i učestalosti recidiva bolesti. Posebno je analiziran ishod kod bolesnika sa komplikovanom formom bolesti, starijih od 65 godina, onih na pridruženoj antibiotskoj terapiji i bolesnika sa prvim recidivom bolesti. U trećem delu istraživanja prikazan je ishod *C. difficile* infekcije kod bolesnika lečenih teikoplaninom, nakon prethodnog neuspeha terapije vankomicinom.

Terapijski režim (teikoplanin ili vankomicin) je bolesnicima dodeljivan naizmenično, a u uslovima kada je jedan od lekova bio nedostupan, svi bolesnici su dobijali jedini dostupan

lek u tom trenutku. Po završenom lečenju bolesnici su praćeni tokom 8 nedelja, redovnim kontrolnim pregledima u dvonedeljnom intervalu, u cilju otkrivanja recidiva bolesti.

**REZULTATI:** U istraživanje je uključeno ukupno 287 bolesnika, od čega je 107 bolesnika lećeno teikoplaninom, a 180 vankomicinom. Prosećna starost svih bolesnika iznosila je  $73,5 \pm 10,6$  godina, a bolesnici stariji od 65 godina ćinili su 78%. Nije bilo statistićki znaćajne razlike u prosećnim godinama starosti niti u procentu starijih od 65 godina između bolesnika lećenih vankomicinom i teikoplaninom. Od ukupnog broja analiziranih bolesnika njih 65 (22,6%) je imalo komplikovanu formu bolesti, pri ćemu nije utvrćeno postojanje statistićki znaćajne razlike u distribuciji bolesnika prema težini bolesti između dve terapijske grupe. Meću svim bolesnicima, kod 186 (64,8%) se radilo o prvoj epizodi infekcije, a kod 101 (35,2%) bolesnika o prvom recidivu. Udeo bolesnika sa prvim recidivom bolesti bio je nešto veći u grupi bolesnika lećenih vankomicinom, ali bez statistićeke znaćajnosti. Prosećan broj leukocita pri prijemu kod ukupnog broja bolesnika iznosio je  $15\ 800 \pm 8\ 200/\text{mm}^3$ . Nije bilo statistićki znaćajne razlike u broju leukocita između dve terapijske grupe. Rezultati ribotipizacije ućinjene kod 45 bolesnika pokazali su ubedljivu dominaciju ribotipa 027 koji je naćen u 43/45 (95,6%) uzoraka, dok su u po jednom uzorku naćeni ribotip 001/072 i 014/020.

Klinićeke izlećenje postignuto je kod 97 (90,7%) bolesnika lećenih teikoplaninom i 143 (79,4%) bolesnika lećenih vankomicinom. Bolesnici lećeni teikoplaninom imali su statistićeke znaćajno veću ućestalost klinićeke izlećenja u odnosu na bolesnike lećene vankomicinom, a znaćajno manju ućestalost refraktarnosti na terapiju [ $p=0,013$ , OR (95% CI) 2,51 (1,19-5,28) i  $p=0,020$ , OR (95% CI) 0,12 (0,02-0,94), respektivno]. Nije utvrćena statistićeke znaćajna razlika u ućestalosti klinićeke izlećenja, smrtnog ishoda, niti refraktarnih slućajeva kod bolesnika lećenih teikoplaninom i vankomicinom u grupi bolesnika sa komplikovanom bolešću.

Prosećno vreme do prestanka proliva nakon poćetka terapije iznosilo je  $6,0 \pm 3,1$  dana kod bolesnika lećenih teikoplaninom i  $6,2 \pm 3,4$  dana kod bolesnika lećenih vankomicinom, pri ćemu nije bilo statistićeke znaćajne razlike u zavisnosti od terapijskog rećizma.

Smrtni ishod je nastupio kod ukupno 29 (10,1%) bolesnika. Nije bilo statistićeke znaćajne razlike u ućestalosti smrtnog ishoda između bolesnika lećenih teikoplaninom i

vankomicinom. Takođe, iako je smrtni ishod bio češći kod bolesnika lečenih vankomicinom kako u grupi sa nekomplikovanom tako i u grupi bolesnika sa komplikovanom formom bolesti, razlika u smrtnosti nije bila statistički značajna ni u jednoj od kategorija bolesti u zavisnosti od terapijskog režima.

Nakon perioda praćenja od 8 nedelja kod 9,3% bolesnika lečenih teikoplaninom i 34,3% lečenih vankomicinom došlo je do pojave recidiva. Bolesnici sa CDI lečeni teikoplaninom imali su statistički značajno manju učestalost recidiva bolesti [ $p < 0,001$ , OR (95%CI) 0,20 (0,09-0,42)]. Kod bolesnika sa komplikovanim oblikom bolesti iako su bolesnici lečeni teikoplaninom imali manju učestalost recidiva nego bolesnici lečeni vankomicinom, razlika nije bila statistički značajna. Multivarijantnom analizom primena teikoplanina pokazala se kao nezavisan faktor povezan sa manjom učestalošću recidiva bolesti ( $p = 0,001$ ).

Primena teikoplanina bila je povezana sa značajno manjom učestalošću recidiva u odnosu na primenu vankomicina i u grupama bolesnika starijih od 65 godina i onih sa prvim recidivom bolesti, ali ne i u grupi bolesnika sa pridruženom antibiotskom terapijom. Procenat postignutog kliničkog izlečenja bila je statistički značajno veći pri primeni teikoplanina kod bolesnika starijih od 65 godina, ali ne i kod onih sa prvim recidivom i pridruženom antibiotskom terapijom.

Analizirana su ukupno 24 bolesnika sa *C. difficile* infekcijom refraktarnom na primenu standardne terapije. Svi bolesnici su inicijalno kao i u momentu započinjanja terapije teikoplaninom imali tešku formu bolesti. Kod 22/24 (91,6%) bolesnika učinjena je fleksibilna rektosigmoidoskopija nakon 14 dana standardne terapije i kod njih 21 (95,5%) su i tada viđene pseudomembrane. U momentu započinjanja terapije teikoplaninom komplikovanu bolest imalo je 5 (20,8%) bolesnika. Kod 22/24 (91,7%) bolesnika postignuto je kliničko izlečenje. Smrtni ishod kao i refraktarnost na primenu teikoplanina zabeleženi su kod po 1/24 (4,2%) bolesnika. Recidiv je nastupio kod 1/22 (4,5%) bolesnika.

**ZAKLJUČAK:** Učinjenim istraživanjem pokazano je da primena teikoplanina u lečenju teške *C. difficile* infekcije dovodi do slične ili veće učestalosti kliničkog izlečenja u odnosu na primenu vankomicina, sa značajno manjom učestalošću recidiva bolesti. Teikoplanin se pokazao kao nezavisan prediktor manje učestalosti recidiva bolesti. Pokazana je i njegova efikasnost kod posebnih grupa bolesnika-onih sa komplikovanom infekcijom, pridruženom



antibiotskom terapijom, starijih od 65 godina i bolesnika sa prvim recidivom bolesti. Takođe, primena teikoplanina dovela je do izlečenja kod bolesnika sa *C. difficile* infekcijom refraktarnom na primenu standardne terapije. Zbog svega navedenog teikoplanin bi mogao biti jedna od terapijskih opcija za lečenje teške i refraktarne *C. difficile* infekcije.

**KLJUČNE REČI:** *Clostridium difficile*; teikoplanin; recidiv; teška forma bolesti; refraktarna *Clostridium difficile* infekcija

**NAUČNA OBLAST:** Medicina

**UŽA NAUČNA OBLAST:** Medicinska farmakologija

**UDK broj:**

**THE ASSESSMENT OF EFFICACY OF ORAL TEICOPLANIN IN  
PHARMACOTHERAPY OF SEVERE, COMPLICATED AND REFRACTORY  
*CLOSTRIDIUM DIFFICILE* INFECTION**

**SUMMARY**

**INTRODUCTION:** *Clostridium difficile* is the main cause of postantibiotic diarrhoea and pseudomembranous colitis. Although it was first considered to be a sporadic disease, during the last fifteen years *C. difficile* infection became a global healthcare issue, one of the leading nosocomial infections and major cause of mortality especially among patients over 65 years old. The increasing number of patients, especially those with severe and refractory disease, as well as the increasing number of recurrences is associated with the emergence of a new hypervirulent strain, NAP1/BI/027.

*C. difficile* infection ranges from mild to moderate diarrhoea without colitis, through severe, to severe complicated form of the disease which presents with ileus, toxic megacolon, hypotension requiring vasopressors, organ dysfunction, metal changes, leucocytosis  $\geq 35000/\text{mm}^3$  or leukopenia  $< 2000/\text{mm}^3$ .

The major issue in everyday practice with *C. difficile* infection is high recurrence rate and the increasing number of refractory disease. Standard therapy for *C. difficile* infection includes metronidazole and vancomycin, and recently, fidaxomicin, whose usage partially reduced recurrence rates. Previous studies addressing the use of teicoplanin for *C. difficile* infection showed its' efficacy, but these studies were conducted in the "preepidemic" era and included small number of patients.

**AIM:** The aim of this study was to assess and compare the outcome of severe *C. difficile* infection among patients treated with teicoplanin and vancomycin according to clinical cure rate, time to resolution of diarrhoea, mortality, and recurrence rate after the 8 weeks follow up. Another aim was to assess the efficacy of oral teicoplanin in the treatment of severe *C. difficile* infection, refractory to 10-14 days of standard therapy. The aim was also to analyse *C. difficile* ribotypes in the study population.

**PATIENTS AND METHODS:** This was a two-year prospective observational cohort study performed in the Clinic for infectious and tropical diseases, Clinical Centre of Serbia,

from 1<sup>st</sup> August 2013 until 31<sup>st</sup> July 2015. The study population included patients with confirmed *C. difficile* infection treated in the Gastroenterology department of the Clinic for infectious and tropical diseases, Clinical Centre of Serbia. The study enrolled adult patients with confirmed *C. difficile* infection who satisfied the criteria for severe or refractory disease with first episode or first recurrence. Patients with mild to moderate disease, second or subsequent recurrence (due to different treatment protocol they require), concomitant bowel disease which *per se* could be followed by diarrhoea, patients with life threatening disease on admission (because all of them were given vancomycin), as well as those allergic to glycopeptides, were excluded from the study. Patients who were subsequently discovered to suffer a concomitant bowel disease, those lost during follow up, as well as those readmitted to another hospital during follow up where they could be re-infected with *C. difficile*, were also excluded from the analysis. The study consisted of three parts.

In the first part patients treated with teicoplanin and vancomycin were compared according to their demographic, clinical and laboratory characteristics. Ribotyping was also performed. In the second part, we assessed and compared the outcome of severe *C. difficile* infection among patients treated with teicoplanin and vancomycin according to clinical cure, mortality and recurrence rates as well as according to time to resolution of diarrhoea. We also assessed the outcome in special populations-patients older than 65, with first recurrence, complicated disease and concomitant antibiotic therapy. In the third part of the study, we analyzed the efficacy of teicoplanin in the treatment of severe *C. difficile* infection, refractory to standard therapy. Patients were assigned to treatment regimen (teicoplanin or vancomycin) alternately, and in the situation when one of the drugs was not available, patients were given the only available drug.

**RESULTS:** The study enrolled 287 patients, of which 107 were treated with teicoplanin and 180 with vancomycin. The mean age of all patients was  $73.5 \pm 10.6$  years, and 78% of patients were over 65 years old. There was no statistically significant difference in the mean age or the percentage of patients over 65 years old among patients treated with teicoplanin and vancomycin. Among all patients, 65 (22.6%) had complicated disease, and there was no statistical difference in the disease severity between two treatment groups. First episode was present in 186 (64.8%) of patients, and 101 (35.2%) had first recurrence.

The proportion of patients with first recurrence was higher among patients treated with vancomycin, but without statistical significance. The mean leucocyte count was  $15800 \pm 8200/\text{mm}^3$ , and there was no statistical difference between patients treated with teicoplanin and vancomycin. The results of the ribotyping revealed the predominance of ribotype 027 which was present in 43/45 (95.6%) of patients, while ribotype 001/072 and 014/020 were found in one sample each.

Clinical cure was achieved in 97 (90.7%) of patients treated with teicoplanin and 143 (79.4%) patients treated with vancomycin. Patients treated with teicoplanin had statistically significantly higher clinical cure rate and significantly lower rate of refractory disease comparing to those treated with vancomycin [ $p=0,013$ , OR (95% CI) 2,51 (1,19-5,28) i  $p=0,020$ , OR (95% CI) 0,12 (0,02-0,94), respectively]. There was no statistical difference in clinical cure rate, mortality rate or rate of refractory disease among patients treated with teicoplanin and vancomycin in the group of patients with complicated disease.

There was no statistical difference in time to resolution of diarrhoea among patients treated with teicoplanin and vancomycin ( $6.0 \pm 3.1$  vs.  $6.2 \pm 3.4$  days)

Death occurred in 29 (10.1%) patients. There was no statistical difference in the mortality rate among patients treated with teicoplanin and vancomycin. Although the mortality rate was higher in the vancomycin treated patients in the group with non-complicated as well as with complicated disease, the difference was not statistically significant.

After the 8 weeks follow up recurrence rates were 9.3% in the teicoplanin and 34.3% in the vancomycin treatment group. Patients treated with teicoplanin had statistically significantly lower recurrence rates than patients treated with vancomycin [ $p < 0,001$ , OR (95%CI) 0,20 (0,09-0,42)]. Among patients with complicated disease, although patients treated with teicoplanin had lower recurrence rates comparing to those treated with vancomycin, the difference was not statistically significant. After performing multivariate analysis teicoplanin was found to be independent predictor for lower recurrence rates ( $p=0,001$ ).

Treatment with teicoplanin was associated with significantly lower recurrence rate comparing to treatment with vancomycin in the group of patients over 65 years old and those with first recurrence, but not in the group of patients with concomitant antibiotic

therapy. Clinical cure rate was statistically significantly higher among patients treated with teicoplanin in the group of patients over 65 years old, but was not higher than the one achieved with vancomycin in the groups of patients with first recurrence and concomitant antibiotic therapy.

We analysed 24 patients with severe *C. difficile* infection, refractory to standard therapy. Initially, as well as at the time of the initiation of teicoplanin therapy, all of these patients had severe disease. In 22/24 (91.6%) rectosigmoidoscopy was performed after 14 days of standard therapy and in 21 (95.5%) of them revealed pseudomembranous colitis at that point. At the time of the initiation of teicoplanin therapy, 5 (20.8%) patients had complicated disease. In 22/24 (91.7%) patients, clinical cure was achieved. Death and failure to respond to teicoplanin occurred in 1/24 (4.2%) patient each. Recurrence developed in 1/22 (4.5%) patient.

**CONCLUSION:** The present study demonstrated that patients with severe *C. difficile* infection treated with teicoplanin achieved similar or higher clinical cure rates comparing to patients treated with vancomycin, with significantly lower recurrence rates. Teicoplanin was found to be the independent predictor of lower recurrence rate. Its' efficacy was also shown among patients over 65 years old, those with complicated disease, first recurrence and concomitant antibiotic therapy. Likewise, teicoplanin was efficient in achieving clinical cure among patients with severe *C. difficile* infection, refractory to standard therapy. According to all the aforementioned teicoplanin might be a potential treatment option for severe and refractory *C. difficile* infection.

**KEY WORDS:** *Clostridium difficile*; teicoplanin; recurrence; severe disease; refractory *Clostridium difficile* infection

**SCIENTIFIC FIELD:** Medicine

**SCIENTIFIC SUBFIELD:** Medical pharmacology

**UDK number:**

# SADRŽAJ

<b>1.</b>	<b>UVOD.....</b>	<b>1</b>
1.1.	<i>Clostridium difficile</i> -mikrobiološke karakteristike, faktori virulencije i patogeneza bolesti.....	1
1.2.	Epidemiologija <i>C. difficile</i> .....	7
1.3.	Dijagnostika <i>C. difficile</i> .....	9
1.4.	Klinička prezentacija <i>C. difficile</i> infekcije .....	14
1.5.	Terapija <i>C. difficile</i> infekcije .....	17
1.6.	Standardna terapija <i>C. difficile</i> infekcije .....	18
1.6.1.	Metronidazol.....	18
1.6.2.	Vankomicin.....	20
1.6.3.	Preporuke za lečenje <i>C. difficile</i> infekcije.....	22
1.7.	Teikoplanin-mehanizam dejstva, farmakokinetičke i farmakodinamske karakteristike i neželjeni efekti .....	25
1.8.	Teikoplanin-dosadašnja iskustva u lečenju <i>C. difficile</i> infekcije.....	27
1.9.	Druga alternativna terapija <i>C. difficile</i> infekcije.....	27
1.9.1.	Fidaksomicin.....	27
1.9.2.	Tigeciklin .....	29
1.9.3.	Rifaksimim .....	29
1.9.4.	Nitazoksamid .....	30
1.9.5.	Bizmut subsalicilat .....	31
1.9.6.	Ramoplanin.....	31
1.9.7.	Cadazolid .....	32
1.9.8.	Surotomicin .....	32
1.9.9.	Toksin vezujući adsorbenti.....	33
1.9.10.	Probiotici .....	34
1.9.11.	Bakterioterapija fekalnom transplantacijom.....	36
1.9.12.	Kolonizacija netoksigenim sojevima <i>C.difficile</i> .....	38
1.9.13.	Imunoterapija .....	38
1.9.13.1.	Intravenski imunoglobulini .....	38

1.9.13.2.	Monoklonska antitela .....	39
1.10.	Vakcinacija .....	40
1.11.	Hirurško lečenje <i>C. difficile</i> infekcije .....	40
1.12.	Mere prevencije <i>C. difficile</i> infekcije .....	41
<b>2.</b>	<b>CILJEVI ISTRAŽIVANJA .....</b>	<b>42</b>
<b>3.</b>	<b>BOLESNICI I METODE .....</b>	<b>44</b>
3.1.	Dizajn studije.....	44
3.2.	Određivanje eksperimentalne i kontrolne grupe i potrebne veličine uzoraka .....	45
3.3.	Metode za dijagnostiku <i>C. difficile</i> infekcije .....	46
3.4.	Definicija teške, komplikovane i refraktorne forme <i>C. difficile</i> infekcije.....	47
3.5.	Način dodeljivanja terapijskog režima, doziranje i trajanje terapije .....	47
3.6.	Način pripreme i bezbednost leka .....	48
3.7.	Prikupljanje podataka .....	49
3.8.	Praćenje bolesnika .....	49
3.9.	Statistička obrada podataka .....	50
3.10.	Etičnost istraživanja .....	50
<b>4.</b>	<b>REZULTATI .....</b>	<b>51</b>
4.1.	Prvi deo istraživanja .....	51
4.1.1.	Demografske karakteristike bolesnika .....	51
4.1.2.	Pridružene bolesti analiziranih bolesnika .....	53
4.1.3.	Kliničke karakteristike analiziranih bolesnika .....	56
4.1.4.	Laboratorijske analize bolesnika .....	60
4.1.5.	Radiografski i ehosonografski nalazi kod bolesnika sa <i>C. difficile</i> infekcijom .....	63
4.1.6.	Rezultati dijagnostičkih metoda za dokazivanje <i>C. difficile</i> infekcije .....	65
4.1.7.	Komplikacije tokom lečenja <i>C. difficile</i> infekcije .....	67
4.2.	Drugi deo istraživanja .....	70

4.2.1.	Ishod lečenja bolesnika sa <i>C. difficile</i> infekcijom na kraju terapije .....	70
4.2.2.	Ishod lečenja bolesnika sa <i>C. difficile</i> infekcijom nakon perioda praćenja od 8 nedelja .....	81
4.2.3.	Ishod <i>C. difficile</i> infekcije kod posebnih grupa bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom .....	86
4.2.3.1.	Ishod <i>C. difficile</i> infekcije kod bolesnika starijih od 65 godina lečenih teikoplaninom i vankomicinom .....	86
4.2.3.2.	Ishod <i>C. difficile</i> infekcije kod bolesnika sa prvim recidivom bolesti lečenih teikoplaninom i vankomicinom .....	88
4.2.3.3.	Ishod <i>C. difficile</i> kod bolesnika sa pridruženom antibiotskom terapijom lečenih teikoplaninom i vankomicinom .....	89
4.3.	Treći deo istraživanja .....	91
4.3.1.	Primena teikoplanina u lečenju bolesnika sa refraktornom <i>C. difficile</i> infekcijom .....	91
<b>5.</b>	<b>DISKUSIJA .....</b>	<b>101</b>
<b>6.</b>	<b>ZAKLJUČCI .....</b>	<b>133</b>
<b>7.</b>	<b>LITERATURA .....</b>	<b>135</b>



# 1. UVOD

## **1.1. *Clostridium difficile* –mikrobiološke karakteristike, faktori virulencije i patogeneza bolesti**

*Clostridium difficile* je gram pozitivni, striktno anaerobni bacil sa sposobnošću stvaranja spora. Prvi put je otkriven u kulturi fecesa novorođenčeta 1935. godine (1). Najpre je nazvan *Bacillus difficilis* (od latinske reči “*difficilis*“ - težak) zbog teškoća koje su postojale u postupku izolacije ove bakterije i njenog sporog rasta tokom kultivacije (1). Smatralo se da je *C. difficile* nepatogen sve do 1978. godine kada su *Bartlett* i saradnici utvrdili da je *C. difficile* izvor toksina u stolici bolesnika sa pseudomembranoznim kolitisom (2). Razumevanje patogeneze, epidemiologije, dijagnostike, terapije i kliničkog zbrinjavanja pacijenata obolelih od *C. difficile* infekcije (CDI) ubrzano napreduje od 1978. godine, a posebno poslednjih dvadesetak godina. Od 2000. godine značajno se povećala incidenca CDI što je posledica pojave novog, epidemijskog, hipervirulentnog soja, NAP1/BI/027 („*North American pulsed-field 1/PCR-ribotype 027*“) (3).

*C. difficile* je ubikvitarna bakterija. Nalazi se u prirodi, u zemljištu i digestivnom traktu životinja i čoveka. Procenjuje se da kod oko 60-70% odojčadi postoji asimptomatska kolonizacija digestivnog trakta ovom bakterijom, što se možda može objasniti činjenicom da u tom uzrastu nisu u potpunosti razvijeni svi receptori na epitelu gastrointestinalnog trakta (GIT) te zbog toga ne dolazi do razvoja bolesti (4,5). Crevna flora odojčeta kao i mogući zaštitni faktori prisutni u majčinom mleku (sekretorni IgA, oligosaharidi koji se vezuju za receptore za toksin A i inhibiraju njegovo vezivanje za zid creva) su takođe neka od objašnjenja zašto odojčad ne oboleva od CDI (4,6). Kolonizacija *C. difficile*, ali i simptomatska CDI je češća kod odojčadi koja se hrane mlečnim formulama u odnosu na onu koja se doje, što se eventualno može objasniti manjim fekalnim pH kod dece koja se doje, a što ne pogoduje germinaciji vegetativnih oblika *C. difficile* (6). Tokom prve godine života GIT deteta kolonizuje se ostalim bakterijama i postepeno se približava sastavu crevne flore odraslih što za posledicu ima postepenu eliminaciju *C. difficile* iz creva (4).

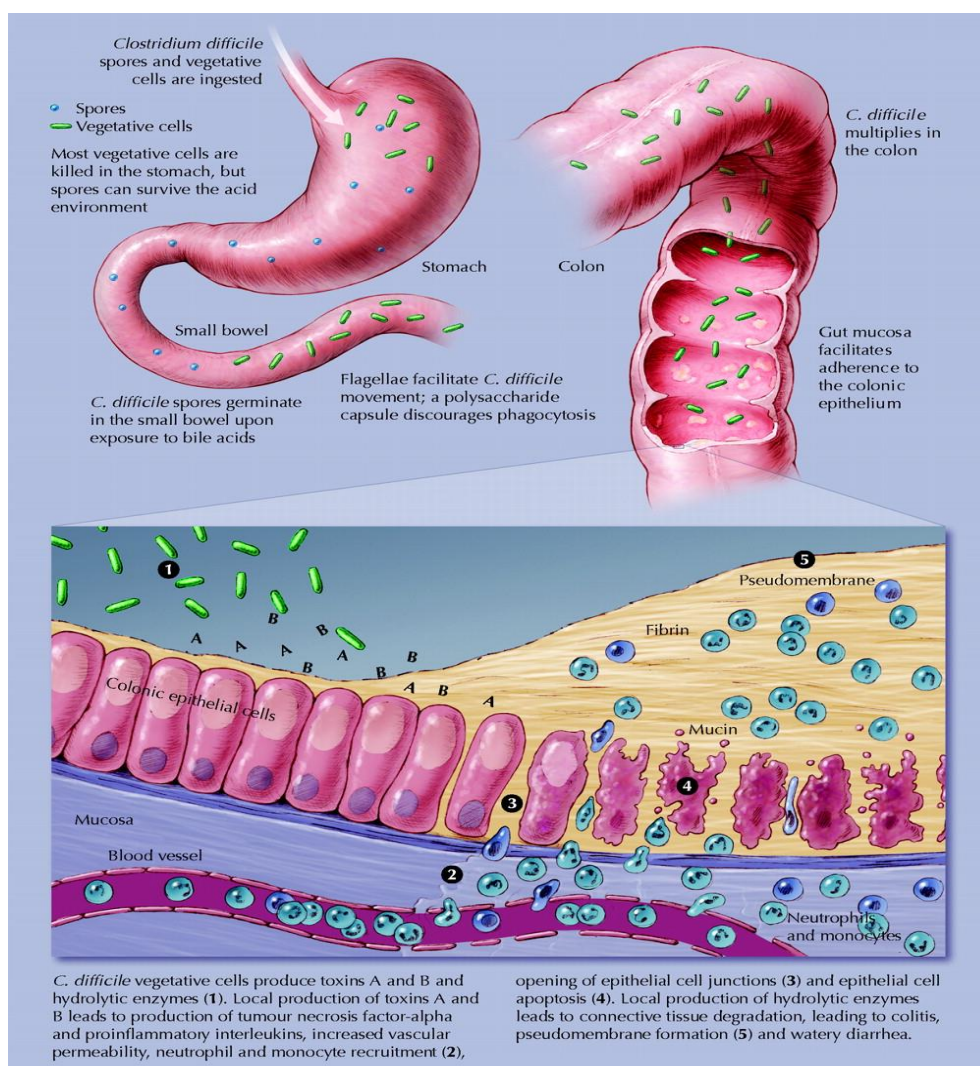
Kolonizacija odraslih nije uobičajena, ali su različite studije pokazale da je oko 3-13,3% odraslih osoba asimptomatski kolonizovano ovom bakterijom (5,7-9). Stopa kolonizacije je veća kod hospitalizovanih bolesnika i prema podacima iz literature iznosi 6,7-17% (7-12). Najveća stopa asimptomatske kolonizacije registrovana je kod bolesnika lečenih u Jedinicama intenzivne nege i kreće se od 10-20% (13). Istraživanja sprovedena u Japanu i Holandiji pokazala su da je stopa kolonizacije među zdravstvenim radnicima bila 4,3% i 13%, respektivno (14,15). Asimptomatski nosioci iako nemaju tegobe doprinose širenju ove infekcije koje se odigrava fekooralnim putem, a najčešće preko instrumenata i/ili ruku medicinskog osoblja u toku nege bolesnika u bolnicama.

*C. difficile* se u spoljašnjoj sredini nalazi u vegetativnoj formi, gde u nepovoljnim uslovima stvara spore. Spore *C. difficile* su veoma otporne na različite nepovoljne uslove, kao i na prisustvo većine dezinfekcionih sredstava izuzev preparata na bazi hlora te mogu preživeti godinama u spoljašnjoj sredini (5,16). Takođe su otporne na prisustvo hlorovodonične kiseline u želucu, što ovoj bakteriji omogućava da nakon unošenja peroralnim putem, u formi spora preživi prolazak kroz želudac i kao takva stigne u tanko crevo gde se formira vegetativni oblik bakterije pod uticajem odgovarajućih žučnih soli (16,17). Sledeći korak u patogenezi je kolonizacija crevnog epitela, a potom, u slučaju toksigenih sojeva i postojećih predisponirajućih faktora poput narušene uobičajene crevne flore, razvoj simptoma koji su dominantno posledica dejstva toksina (18). Patogeneza CDI prikazana je na slici 1.

*C. difficile* produkuje više toksina, a najznačajniji su toksin A (enterotoksin) i toksin B (citotoksin) (19-22). Poslednjih godina se sve veći značaj pripisuje i binarnom toksinu koji se naziva još i *C. difficile* transferaza, a koji produkuju pojedini sojevi *C. difficile*, pre svega hipervirulentni soj ribotipa 027 i ribotip 078 (23-25). Tačan mehanizam dejstva binarnog toksina nije sasvim razjašnjen, ali njegova povezanost sa težom kliničkom slikom bez obzira na ribotip *C. difficile* nedvosmisleno ukazuje na njegovu patogenost (26).

Najznačajniji efekti toksina A i toksina B na epitel GIT su narušavanje citoskeleta i izazivanje apoptoze (22,27). Pod dejstvom toksina dolazi do promene oblika enterocita i njihovog zaokrugljivanja što predstavlja citopatogeni efekat toksina, dok se citotoksični

efekat ogleda u izazivanju smrti ćelije (27). Toksin A i toksin B izazivaju smrt ćelije pomoću više mehanizama uključujući i p53-zavisnu i p53-nezavisnu apoptozu, kaspaza-zavisnu i kaspaza-nezavisnu apoptozu kao i nekrozu (27-30). Toksini *C. difficile* ostvaruju i druge efekte kojima doprinose patogenezi CDI. Jedan od njih jeste prekidanje međucelijskih veza što doprinosi povećanoj propustljivosti epitela i akumulaciji tečnosti u lumenu creva (31,32). Takođe, oba toksina stimulišu inflamatorni odgovor i produkciju proinflamatornih citokina i to IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$  i IL-8 od strane epitelnih ćelija i leukocita što doprinosi daljem povećanju propustljivosti sluznice i razvoju kolitisa (21). Poseban značaj se pripisuje dejstvu IL-8 koji ima ulogu u hemotaksi i aktivaciji neutrofila.



**Slika 1. Patogeneza *C. difficile* infekcije** (Preuzeto iz Poutanen SM. et al. *Clostridium difficile*-associated diarrhea in adults. CMAJ 2004; 171:(1)51-58 (33))

Istraživanje *Luerly* i saradnika sprovedeno na animalnom modelu pokazalo je da toksin A izaziva inicijalno oštećenje sluznice kolona, a da je sam toksin B relativno inertan, sugerišući tako da toksin A ima ključnu, a toksin B samo pomoćnu ulogu u razvoju bolesti (34). Međutim, u istraživanju *Riegler*-a i saradnika *in vitro* na preparatu sluznice kolona čoveka procenjeno je da je crevni epitel ljudi 10 puta osetljiviji na dejstvo toksina B u odnosu na toksin A te da toksin B ima glavnu ulogu u patogenezi CDI (35). Od 1990. godine izolovano je više patogenih sojeva koji produkuju toksin B, ali ne i toksin A. Ovi sojevi izazivaju isti spektar simptoma bolesti kod ljudi kao i sojevi koji produkuju oba toksina (36). Do danas, iz uzoraka stolice pacijenata obolelih od CDI nisu izolovani patogeni sojevi *C. difficile* koji produkuju samo toksin A (37).

Epitelna barijera je narušena u toku CDI, ali je bakterijemija retka (38,39). Smatra se da su sistemski efekti koji nastaju tokom teških formi CDI delimično posledica toksemije, s obzirom na to da je u eksperimentalnim animalnim modelima CDI, kao i u pojedinim slučajevima kod obolelih ljudi, dokazano prisustvo toksina A i B *C. difficile* u krvi (40-43). Toksin B ima i kardiotoksični potencijal zbog čega je potreban poseban oprez kod bolesnika sa pridruženim srčanim oboljenjima (44).

Na hipervirulentnost epidemijskog soja NAP1/BI/027 koji se povezuje se najtežim formama bolesti, osim postojanja binarnog toksina, utiču i druge karakteristike. Jedna od njih jeste postojanje mutacije na genu *tcdC* koji je odgovoran za nishodnu regulaciju produkcije toksina (3). Mutacija na ovom genu za posledicu ima povećanu produkciju toksina, a ranije je pokazano da je veća koncentracija toksina povezana sa težom kliničkom slikom bolesti (3,26). Drugi poznati faktori koji dovode do hipervirulentnosti epidemijskog soja su polimorfizam gena *tcdB* što za posledicu ima olakšano vezivanje *C. difficile* za ćelije domaćina, kao i veliki nivo rezistencije na fluorohinolone što je dovelo do selekcije ovog soja u uslovima prekomerne upotrebe pomenute grupe antibiotika (23,45). Genom epidemijskog soja NAP1/BI/027 značajno se razlikuje od genoma ranije opisanog, neepidemijskog soja NAP1/BI/027, što ukazuje na stalne genetske promene koje se dešavaju kod *C. difficile* (46).

Iako je u periodu posle 2000. godine NAP1/BI/027 bio dominantan soj odgovoran za teške kliničke forme bolesti, poslednjih godina pojedine zemlje, poput Engleske i

Holandije, beleže smanjenje učestalosti infekcije ovim sojem *C. difficile* (47,48). Prema studiji Wilcox-a i saradnika učestalost ribotipa 027 u uzorcima stolice obolelih od CDI u Engleskoj se sa 55%, koliko je iznosila u periodu 2007-2008. godine, smanjila na 21% u periodu 2009-2010. godine (47). U studiji sprovedenoj u Norveškoj pokazano je da je ribotip 027 izolovan u samo 3,3% kliničkih uzoraka u prvoj polovini 2009. godine (48). Očekuje se da će stalno genetsko remodelovanje ove bakterije dovesti uskoro do pojave novih epidemijskih sojeva.

Iako se glavna uloga u patogenezi pripisuje toksinima, sve više se govori o značaju i netoksigenih faktora virulencije *C. difficile* koji imaju važnu ulogu u procesu kolonizacije, proliferacije i pezigencije u GIT domaćina.

Jedan od faktora virulencije jeste pomenuta sporulacija. Germinacija vegetativnih oblika iz spora nije sasvim razjašnjena. Utvrđeno je da je za pretvaranje spore u vegetativni oblik bakterije neophodno prisustvo žučne tauroholne kiseline i aminokiseline glicin (49). Proces germinacije mogao bi se samim tim sprečiti primenom neke vrste „blokatora“, a istraživanjem *Sorg*-a i saradnika dokazano je da ulogu blokatora u *in vitro* uslovima ima henodeoksiholna kiselina (50). Svakako da ovo mesto u životnom ciklusu *C. difficile* predstavlja mesto za buduća istraživanja i pronalaženje novih terapijskih opcija.

Nakon germinacije, vegetativna forma kolonizuje crevni epitel i to uz pomoć fibronektin-vezujućeg proteina, proteina ćelijskog zida i površinskog omotača (51-53). Da bi se odigrao proces kolonizacije neophodno je da uobičajena crevna mikroflora bude narušena, kako se ne bi mogla adekvatno suprotstavljati *C. difficile*.

Protektivna uloga crevne mikroflore (mikrobiote) nije u potpunosti razjašnjena, ali postoji više mogućih mehanizama: uticaj crevne mikroflore na transformaciju žučnih kiselina potrebnih za germinaciju spora; produkcija bakteriocina od strane crevne mikroflore koji direktno inhibiraju rast *C. difficile*; stimulacija urođenog imunskog odgovora preko „*toll-like*“ receptora od strane signala koje proizvodi mikroflora, kao i direktna kompeticija između normalne crevne flore i *C. difficile* oko hranljivih materija dostupnih u crevnom sadržaju (54-58). Značaj narušene crevne mikrobiote u razvoju CDI potvrđuje i činjenica da do konačnog izlečenja i prestanka ponavljanih epizoda bolesti i

dolazi tek kada se uspostavi prethodno narušena crevna flora, što objašnjava i primenu fekalne transplantacije kao jedne od terapijskih mera koja se koristi za lečenje višestrukih recidiva CDI.

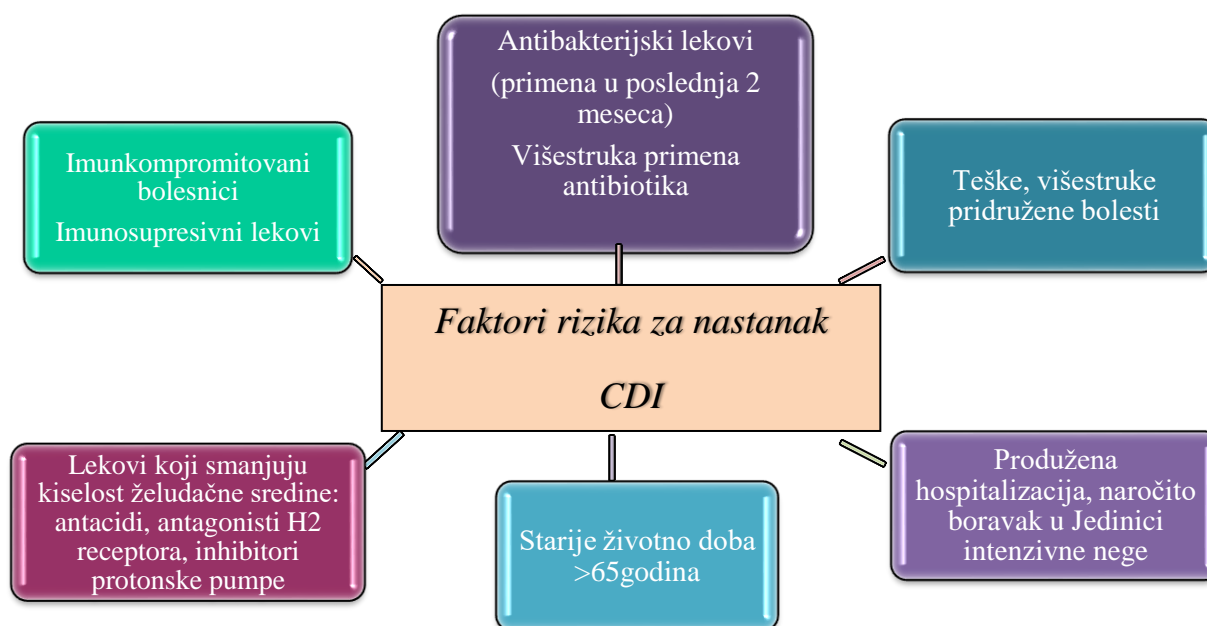
Crevna mikrobiota najčešće je narušena usled prethodne primene antibiotika. Efekat primenjenog antibiotika nije isti kod svih bolesnika, a pretpostavlja se da je za to odgovoran i inicijalni sastav crevne mikroflore koji se razlikuje kod ljudi koji će biti asimptomatski nosioci *C. difficile*, kod onih sa samo jednom epizodom bolesti i kod onih koji imaju sklonost ponavljanim recidivima (59-61). Različite studije su pokazale smanjenu koncentraciju bakterija roda *Bacteroides*, *Prevotella* i *Bifidobacterium* u stolici bolesnika sa CDI u odnosu na zdravu populaciju ili asimptomatske nosioce *C. difficile* (59-62). Bakterije iz roda *Bifidobacterium* pokazale su se kao najvažnija komponenta crevne mikroflore kada je u pitanju odbrana od razvoja CDI (62). Takođe, analiza stolice starijih osoba pokazala je smanjeno prisustvo bakterija iz ovog roda, što može biti jedno od objašnjenja veće učestalosti CDI u populaciji starih (59,60).

Primena različitih antibiotika nosi različit rizik od kolonizacije i razvoja CDI, što je prikazano na tabeli 1 (63). Ovo treba imati na umu prilikom izbora antibiotske terapije ukoliko je ona neophodna, kako kod bolesnika koji nisu nikada imali CDI, tako i kod onih koji su već imali jednu ili više epizoda ove bolesti.

**Tabela 1. Kategorizacija antibiotika na osnovu rizika koji njihova primena nosi za razvoj CDI** (preuzeto iz Monaghan et al. *Recent advances in Clostridium difficile-associated disease. Gut* 2008; 57:850-860.)

Rizik za kolonizaciju <i>C. difficile</i>	Antibiotik
Veliki rizik	Linkozamidi (klindamicin), cefalosporini druge i treće generacije, fluorohinoloni
Umeren rizik	Makrolidi, amoksicilin, ampicilin, amoksicilin/klavulanska kiselina
Mali rizik	Aminoglikozidi, vankomicin, trimetoprim-sulfometoksazol, tetraciklini, benzilpenicilin, piperacilin/tazobaktam

Osim prethodne primene antibiotika postoje i drugi predisponirajući faktori za nastanak bolničke CDI kao što su primena inhibitora protonske pumpe i drugih lekova koji smanjuju kiselost želudačne sredine, laksativa, opioidnih analgetika, imunosupresivne terapije, postojanje imunosupresije usled pridruženih bolesti, produžena hospitalizacija, starost, pridružene hronične bolesti, kao i inflamatorne bolesti creva (18,64-77). (shema 1)



**Shema 1. Predisponirajući faktori za razvoj *C. difficile* enterokolitisa**<sup>18, 64-77</sup>

## **1.2. Epidemiologija *C. difficile* infekcije**

Kao što je pomenuto, *C. difficile* je prvi put opisan 1935. godine kada su ga Hall i O'Toole izolovali iz uzorka fecesa zdravog novorođenčeta (1). Naredne četiri decenije o ovoj bakteriji se malo znalo i smatrala se normalnim stanovnikom crevne flore novorođenčeta.

Ponovno interesovanje za ovu bakteriju počinje 1978. godine kada je utvrđeno da je *C. difficile* izvor toksina kod obolelih od pseudomembranoznog kolitisa (2).

Pseudomembranozni kolitis predstavlja zapaljenje sluznice sa stvaranjem plakova tj. pseudomembrana koje se sastoje od fibrina, sluzi, izumrlih epitelnih ćelija i neutrofila (34). Pseudomembranozni kolitis je prvi put opisan davne 1893. godine, ali uzročnik nije bio poznat decenijama (78). Sa razvojem i većom primenom antibiotika širokog spektra rasla je i učestalost pseudomembranoznog kolitisa, pri čemu je najveći porast učestalosti zabeležen sedamdesetih godina prošlog veka što je koreliralo sa početkom upotrebe klindamicina (34,79). *Bartlett* i saradnici su tada utvrdili da je *C. difficile* uzročnik pseudomembranoznog kolitisa (2). Od tada pa sve do sredine devedesetih godina XX veka CDI je bila sporadična bolest čije lečenje nije predstavljalo poseban problem.

U poslednjih dvadesetak godina dolazi do značajnog porasta broja obolelih od CDI u Evropi, Sjedinjenim Američkim Državama (SAD) i Kanadi (80-86). Osim porasta učestalosti CDI sve češće se beleže pacijenti sa kliničkom slikom teške forme bolesti, većim mortalitetom i češćim recidivima (80-86). Za razliku od pomenutih zemalja, u Velikoj Britaniji se poslednjih par godina beleži pad u učestalosti obolevanja od CDI, što bi moglo biti posledica boljeg sprovođenja protivepidemijskih mera i veoma strogog nadzora u bolnicama, kao i smanjene primene antibiotika poput fluorohinolona i cefalosporina (47,87).

Poslednjih godina raste i učestalost vanbolničke CDI („*Community-Acquired*“ CDI), iako je *C. difficile* prvenstveno bolnička infekcija (88). U istraživanju *Bauer*-a i saradnika koje je sprovedeno u Evropi, 80% CDI bile su bolničke, 14% je bilo stečeno van bolnice, a za 6% nije bilo poznato poreklo CDI (84). Osobe sa vanbolničkom CDI kao faktore rizika za razvoj ove bolesti uglavnom imaju prethodnu primenu antibiotika, značajno ređe inhibitora protonske pumpe, ali određeni broj pacijenata sa vanbolničkom CDI nema jasan faktor rizika (65,68).

Širenju *C. difficile* u vanbolničkoj sredini doprinose asimptomatski nosioci (zdravstveni radnici, prethodno hospitalizovani pacijenti, odojčad), kao i oboleli od CDI koji ne zahtevaju bolničko lečenje, ali je *C. difficile* prisutan i u životnoj sredini gde vodi poreklo od životinja (goveda, svinja, živine), ima ga i u vodi i zemljištu, a takođe je pokazano i da su patogeni sojevi *C. difficile* izolovani u mesu i prerađevinama od svinjskog, govedeg i pilećeg mesa (89-92).



Oboleli od vanbolničke CDI ređe imaju tešku formu bolesti, obično su mlađi u odnosu na bolesnike sa bolnički stečenom CDI i češće su u pitanju prethodno zdravi ljudi, bez značajnih komorbiditeta (93). U svakom slučaju, sve veću učestalost vanbolnički stečene CDI treba imati u vidu u svakodnevnoj kliničkoj praksi kako od strane lekara opšte prakse tako i od strane kliničara-infektologa i treba razmatrati *C. difficile* kao potencijalnog izazivača akutnog ili prolongiranog dijarealnog sindroma i kod bolesnika bez jasnih faktora rizika i/ili prethodne hospitalizacije.

Kao što je već pomenuto, jedan od glavnih faktora koji je odgovoran za porast učestalosti CDI je pojava novog, epidemijskog soja ribotipa 027, kao i povećana primena antibiotika koji su povezani sa velikim rizikom za razvoj CDI, u prvom redu fluorohinolona na koje je ovaj soj rezistentan (23).

U Evropi se ribotip 027 najpre pojavio u Velikoj Britaniji 2003, a potom u Holandiji 2005. godine (18). Od tada su se dogodile brojne epidemije različitog opsega u većem broju evropskih zemalja (84). Prema podacima iz EUCLID (EUCLID- *European, multicentre, prospective, biannual, point-prevalence study of Clostridium difficile infection in hospitalised patients with diarrhoea*) studije sprovedene u više evropskih zemalja tokom 2012. i 2013. godine dominirali su ribotipovi 027, 001/072 i 014/020 (94).

### **1.3. Dijagnostika *C. difficile* infekcije**

Dijagnoza CDI postavlja se na osnovu prisustva karakterističnih simptoma bolesti kao i pozitivnih dijagnostičkih testova za dokazivanje *C. difficile* u stolici.

Testira se isključivo neformirana stolica, jer dokazivanje prisustva *C. difficile* u stolici osoba koje nemaju proliv nema kliničkog značaja i ne zahteva terapiju (65,77). Otkrivanje zdravih kliconoša ima samo epidemiološki značaj. Za analizu se izuzetno retko može koristiti i uzorak dobijen rektalnim brisom i to isključivo kod bolesnika koji su razvili ileus te nije moguće drugačije uzeti uzorak za pregled (65,77).

Rezultate testiranja stolice dece mlađe od 3 godine treba oprezno interpretirati, zbog česte asimptomatske kolonizacije u ovom uzrastu (4,5). U slučaju detekcije *C.*

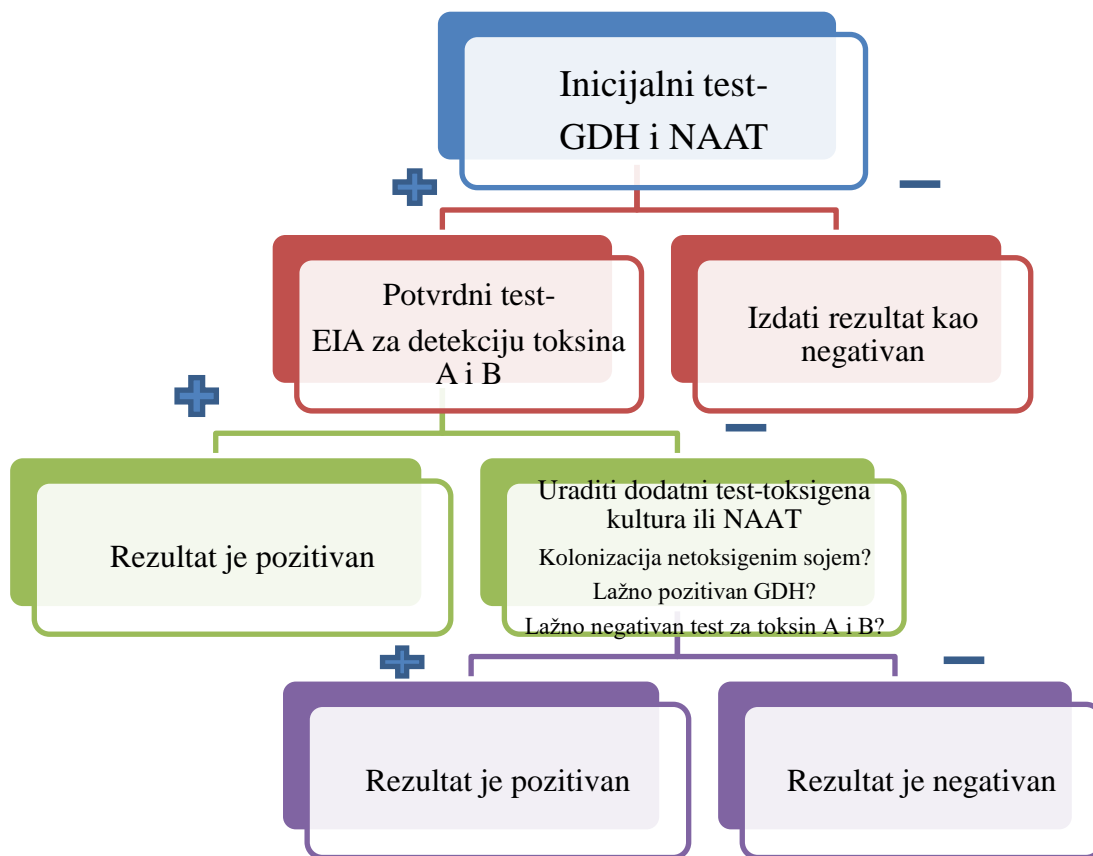
*difficile* kao i toksina A i B u stolici dece do 3 godine starosti koja imaju dijarealni sindrom, potrebno je dalje tragati za drugim, stvarnim uzrokom njihovih tegoba, jer deca ovog uzrasta izuzetno retko oboljevaju od CDI čak i u slučaju kolonizacije toksigenim sojevima (95).

Zlatni standard za dijagnozu CDI jesu pozitivna toksigena kultura stolice i CCNA („*Cell Cytotoxicity Neutralisation Assay*“-test neutralizacije ćelijske citotoksičnosti) (65). Medjutim, kako je izvodjenje ovih testova dugotrajno, današnji algoritam za postavljanje dijagnoze CDI podrazumeva korišćenje brzih testova, pri čemu se savetuje potvrda dijagnoze sa bar 2 različita testa (65,96,97). Naime, kao prvi test koriste se test za detekciju glutamat-dehidrogenaze (GDH) ili NAAT test („*Nucleic Acid Amplification Test*“- test amplifikacije nukleinske kiseline) poput PCR („*Polymerase Chain Reaction*“) testa, a ukoliko je ovaj tj. jedan od ovih testova koji se u datom slučaju uradi pozitivan, radi se drugi test-test za detekciju toksina A i B *C.difficile* (65,96). U slučaju pozitivna oba testa može se postaviti dijagnoza CDI.

*C. difficile* kultura omogućava izolaciju soja *C. difficile* što omogućava dalju analizu i utvrđivanje ribotipova. Kultivacija se sprovodi u dva koraka. U prvom koraku se uzorak stolice izloži temperaturi do 80°C ili se pomeša sa rastvorom koji sadrži visoku koncentraciju etanola što dovodi do smrti drugih mikroorganizama kao i do iščezavanja vegetativnih oblika *C. difficile*, a dovodi do formiranja spora (98). U sledećem koraku dobijeni uzorak koji sadrži spore kultiviše se u specijalnom medijumu koji pogoduje germinaciji vegetativnih oblika (98).

Toksigena kultura predstavlja zlatni standard za dokazivanje CDI (65). Naime, nakon izolacije i rasta soja *C. difficile*, kolonije se testiraju u smislu produkcije toksina, tako što se ispituje izazivanje citopatogenog efekta prilikom dodavanja ćelijskim kulturama (97). Ova procedura može trajati danima, zbog čega nije praktična za rutinsku primenu (99). Alternativno se testiranje produkcije toksina može sprovesti primenom enzimskog imunoeseja (100).

Algoritam za dijagnostiku CDI prikazan je na shemi 2 (97).



**Shema 2. Algoritam za postavljanje dijagnoze CDI** (preuzeto iz Martínez-Meléndez A, et al. *Current knowledge on the laboratory diagnosis of Clostridium difficile infection. World J Gastroenterol* 2017;23(9):1552-1567). EIA- „Enzyme Immuno Assay“; GDH-glutamat dehidrogenaza; NAAT- „Nucleic Acid Amplification Test“

CCNA: U ovoj metodi, filtrat dobijenog uzorka stolice se inokuliše u različite vrste osjetljivih ćelijskih kultura i prati se nastanak citopatogenog efekta *C. difficile* toksina, pre svega toksina B (99). Test mora biti sproveden na svežem uzorku stolice, jer zamrzavanje uzorka ili odlaganje postupka može dovesti do gubitka aktivnosti toksina i lažno negativnih rezultata (101).

Test za otkrivanje GDH: *C. difficile* stvara i oslobađa enzim GDH koji omogućava bakteriji da se brani tokom oksidativnog stresa izazvanog imunskim odgovorom domaćina (102). Ograničenje ovog testa jeste u tome što ovaj enzim produkuju i toksigeni i netoksigeni sojevi *C. difficile* te stoga pozitivan test za otkrivanje GDH nije dovoljan za

postavljanje dijagnoze i zahteva potvrdni test (test za otkrivanje toksina *C. difficile*, molekularni test, CCNA ili toksigenu kulturu) (65,96,97,103). Test za dokazivanje GDH danas je najčešći prvi korak u dijagnostici CDI. Dalji koraci u postavljanju dijagnoze prikazani su na Shemi 2 (97).

EIA („Enzyme Immuno Assay“) test za otkrivanje toksina A i B: Enzimski imunoesej testovi danas se koriste kao potvrdni testovi, nakon pozitivnog GDH ili NAAT (65,77, 96). EIA test se ne preporučuje se kao jedini test zbog male osjetljivosti, a u cilju izbegavanja lažno negativnih rezultata (65,77).

NAAT: Molekularni testovi imaju prednost nad ostalim testovima u smislu veće senzitivnosti i specifičnosti i bržeg dobijanja rezultata (97). Uz to je jednostavnije i čuvanje, transport i uzimanje uzorka jer za sprovođenje ovih testova nije neophodno prisustvo živih ćelija. NAAT je jedan od dva inicijalna testa u dijagnostici CDI prema ESCMID (ESCMID – „*European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*“ - evropsko udruženje za kliničku mikrobiologiju i infektivne bolesti) vodiču, ali se može koristiti i kao jedini test u slučaju postojanja proliva prema vodiču *Surawitz* i saradnika (65, 96).

Bez obzira na prednosti i mane različitih testova i njihovu pouzdanost, rezultate svih testova treba uzeti sa rezervom, jer su mogući kako lažno negativni tako i lažno pozitivni rezultati te se definitivna dijagnoza postavlja u korelaciji sa kliničkom slikom bolesti (96,104). Ukoliko postoji ozbiljna klinička sumnja na CDI, a učinjeni inicijalni dijagnostički test je negativan, može se pregledati još jedan uzorak stolice, ali se svakako savetuje lečenje bolesnika na osnovu postojeće kliničke sumnje i ne preporučuje se prekidanje terapije u slučaju negativnog nalaza pregleda stolice, pogotovo u slučaju postojanja povoljnog terapijskog odgovora (96). Pregledanje uzorka stolice na kraju terapije se ne preporučuje jer je pokazano da u stolici osoba sa prethodnom CDI nakon terapije mogu nedeljama perzistirati toksini i bakterije, a da pacijent više nema tegobe niti se one kasnije razviju u vidu recidiva (65,77).

**Tabela 2. Prednosti i nedostaci različitih testova za dijagnostiku CDI (preuzeto iz *Difclir-Fidaxomicin. Product Monograph. Chapter 2. Microbiology, epidemiology and management of CDI. p31.*)**

Dijagnostički test	Vreme izvođenja	Senzitivnost	Prednosti	Nedostaci
Kultura	48h	93-100%	Direktna izolacija soja Visoka senzitivnost	Spor Ne razlikuje toksigene od netoksigenih sojeva
CCNA	bar 24h	97-100%	Zlatni standard Visoko specifičan	Dugotrajan
Test detekcije GDH	7 sati	80-97%	Visoko specifičan (83-100%) Lak za izvođenje	Ne razlikuje toksigene od netoksigenih sojeva
EIA test za detekciju toksina A i B	2-6h	63-94%	Lak za izvođenje Visoko specifičan (94-100%)	Suboptimalna senzitivnost kada se sam koristi
Real time PCR (NAAT)	manje od 1h	87-100%	Brz Visoko specifičan (94-100%)	Detektuje gene za toksine, ne i produkciju Visoka cena

Osim navedenim molekularnim i mikrobiološkim metodama i metodama za otkrivanje antigena i toksina, dijagnozu CDI moguće je postaviti i endoskopski tj. kolonoskopijom ili rektosigmoidoskopijom kojima se kod teške forme CDI uočavaju tipične pseudomembrane na sluznici kolona (5,65).

Kao pomoćne metode u dijagnostici CDI služe nam ultrazvučni pregled abdomena kao i kompjuterizovana tomografija (CT) abdomena kojima se može uočiti postojanje znakova kolitisa- zadebljali zid kolona, reakcija lokalnog mezenterijalnog masnog tkiva, postojanje ascitesa interintestinalno u odsustvu drugih uzroka slobodne tečnosti u abdomenu (5,65).

#### **1.4. Klinička prezentacija *C. difficile* infekcije**

Kolonizacija GIT-a bakterijom *C. difficile* može dovesti do asimptomatskog kliconoštva, ali i do razvoja infekcije. Ukoliko dođe do infekcije, može se raditi o dijareji vezanoj za *C. difficile*, *C. difficile* kolitisu, pseudomembranoznom kolitisu i fulminantnom kolitisu (105).

Dijareja vezana za *C. difficile* („*Clostridium difficile* associated diarrhoea“) predstavlja oko 25-30% svih proliva vezanih za primenu antibiotika („*Antibiotic associated diarrhoea*“) (105). Proliv se javlja obično nakon 48-72h nakon infekcije ovom bakterijom. Osim proliva (više od 3, a uglavnom manje od 10 neformiranih stolica dnevno) bolesnik može imati i grčeve i bolove u truhu, dok je povišena telesna temperatura retko prisutna. U fizikalnom nalazu može postojati laka bolna osetljivost trbuha. Veliki broj stolica može dovesti do dehidracije i elektrolitnog disbalansa (5).

*C. difficile* kolitis („*Clostridium difficile*-associated colitis“) bez formiranja pseudomembrana je najčešći oblik CDI (105). Osim simptoma prisutnih u slučaju dijareje izazvane *C. difficile* bez kolitisa, kod ovog oblika bolesti postoji obično lako povišena telesna temperatura, mučnina, a u laboratorijskim analizama se uočava leukocitoza (5,105). Bolesnici često imaju više od 10 neformiranih stolica dnevno, često sa primesama sluzi. Kod ovog oblika bolesti može doći do izrazite dehidracije. Kolonoskopijom se uočava eritematozna, fragilna sluznica sa mogućim kontaktnim krvarenjem (5). Pregled stolice na skriveno krvarenje može biti pozitivan (5,105).

Pseudomembranozni kolitis dijagnostikuje se sprovedenim endoskopskim pregledom (kolonoskopijom ili rektosigmoidoskopijom) kojim se na sluznici kolona, a ponekad i terminalnog ileuma, verifikuju žućkasti plakovi tj. pseudomembrane (5). Ovi plakovi predstavljaju plitke ulceracije mukoze koja dovodi do oslobađanja proteina, sluzi i nakupljanja inflamatornih ćelija. Prateći simptomi kod bolesnika su jak bol u truhu, dehidracija i često hipoalbuminemija (5). Postojanje pseudomembranoznog kolitisa je dovoljno za postavljanje dijagnoze teške CDI.

Fulminantni kolitis razvija se kod oko 3-8% bolesnika sa CDI (106). U fizikalnom nalazu kod ovih bolesnika postoji defans pri palpaciji trbuha, dok se u biohemijskim

analizama može uočiti izrazita leukocitoza (preko 40000/mm<sup>3</sup>), ali i anemija zbog sitnih krvarenja iz ulceracija na sluznici kolona (5, 107). Bolesnik može imati proliv, ali može doći i do ravoja ileusa i dilatacije kolona uz razvoj sistemskog inflamatornog odgovora i multiorganske disfunkcije (5,105). Smrtnost kod ovakvih bolesnika je velika i dostiže 60% (108). Ukoliko se bolesnik javi sa kliničkom slikom fulminantnog kolitisa, bez postojanja mikrobiološke potvrde CDI savetuje se hitna kolonoskopija tj. rektosigmoidoskopija od starne iskusnog kolonoskopiste kako bi se smanjio rizik od perforacije creva (5).

*C. difficile* enteritis je veoma redak. Javlja se uglavnom kod bolesnika kojima je učinjena kolektomija (5).

Prema drugoj klasifikaciji CDI na osnovu težine kliničke slike razlikuju se laka do umerena bolest, teška i teška komplikovana forma CDI (65). Proliv je svakako simptom neophodan za postavljanje dijagnoze CDI, ali treba imati u vidu da se izuzetno retko može raditi o CDI i u odsustvu proliva, tj. odsustvu stolice u slučaju ileusa ili toksičnog megakolona. Toksični megakolon se definiše kao postojanje radiografskih znakova distenzije kolona (širina lumena preko 6 cm) i znakova sistemskog inflamatornog odgovora (109). Toksični megakolon je najteža komplikacija CDI i predstavlja životno ugrožavajuće stanje.

Laka forma bolesti karakteriše se pojavom proliva kao jedinim simptomom. Umerena forma bolesti može imati i dodatne simptome i znake (grčevi i nelagodnost u trbuhu, povišena temperatura), ali ne ispunjava kriterijume za tešku bolest (65).

Postoje različite definicije teške i teške komplikovane forme bolesti.

Prema vodiču Američkog udruženja za infektivne bolesti i Udruženja kliničkih epidemiologa Amerike (IDSA-„*Infectious Disease Society of America*“/ SHEA-„*Society of Hospital Epidemiologists of America*“) pod teškom kliničkom formom bolesti podrazumeva se postojanje leukocitoze  $\geq 15000/\text{mm}^3$  ili porast serumskog kreatinina za  $\geq 1,5$  puta u odnosu na nivo pre bolesti, dok se pod komplikovanom formom podrazumeva postojanje hipotenzije ili šoka, paralitičkog ileusa ili toksičnog megakolona (65).

Prema evropskom vodiču za lečenje CDI iz 2009. godine, pod teškom CDI podrazumeva se ona infekcija kod koje postoji jedan ili više od navedenih simptoma i znakova bolesti: telesna temperatura  $> 38.5^{\circ}\text{C}$ , drhtavica, hemodinamska nestabilnost uključujući znake septičnog šoka, znaci peritonitisa, ileusa, leukocitoza  $>15000/\text{mm}^3$ , hipoalbuminemija  $<30\text{g/l}$ , porast serumskog kreatinina za  $\geq 1,5$  puta u odnosu na nivo pre bolesti, porast vrednosti serumskih laktata, postojanje endoskopski verifikovanog pseudomembranoznog kolitisa, distenzija debelog creva uočena radiografskom dijagnostikom, zadebljanje zida debelog creva i ascites koji se ne može objasniti drugim uzrocima (110). CDI bez znakova teškog kolitisa kod bolesnika starijih od 65 godina, sa teškim komorbiditetima, imunodeficijencijom ili koji zahtevaju lečenje u Jedinicama intenzivne nege se takođe smatraju teškom formom CDI (110).

U vodiču Surawitz-a i saradnika iz 2013. godine koji sažima američki i evropski vodič za CDI, teška CDI se definiše kao postojanje hipoalbuminemije  $<30\text{g/l}$  i jednog od sledeća dva uslova: leukocitoza  $\geq 15000/\text{mm}^3$  ili bolna osetljivosti trbuha uz odsustvo znakova i simptoma komplikovane bolesti (77). Komplikovana forma bolesti je po istom vodiču ona forma koja ispunjava bar jedan od sledećih kriterijuma: zahteva prijem u Jedinicu intenzivne nege, postojanje hipotenzije koja može, ali ne mora zahtevati primenu vazopresora, temperatura  $\geq 38.5^{\circ}\text{C}$  koja se ne može objasniti drugim uzrocima, postojanje ileusa, toksičnog megakolona, izmenjen mentalni status, leukocitoza  $\geq 35000/\text{mm}^3$  ili leukopenija  $<2000/\text{mm}^3$  ili postojanje insuficijencije organa (bubrežne, respiratorne...) (77).

Značajan problem u svakodnevnoj praksi predstavlja rekurentna bolest. Pod rekurentnom CDI podrazumeva se ponovna pojava simptoma i znakova bolesti uz potvrdu CDI u okviru 8 nedelja od prethodne epizode (77,110). Rekurentna bolest može biti recidiv prethodne infekcije, ali se može raditi i o reinfekciji novim sojem *C. difficile*. Rizik za recidiv bolesti iznosi oko 20 do čak 38% nakon prve epizode u slučaju teške CDI, dok rizik za drugi recidiv dostiže čak 40-65% i raste za svaku sledeću epizodu bolesti (16,77,111-114).

Prema definicijama korišćenim u studijama koje su ispitivale i poredile efikasnost različitih terapijskih opcija za lečenje CDI kliničko izlečenje podrazumeva prestanak



proliva tj. postojanje ne više od 3 neformirane stolice dnevno, tokom najmanje dva sukcesivna dana tokom primene odgovarajuće terapije za CDI bez ponovne pojave proliva tokom trajanja terapije i bez potrebe da se u terapiju uključuje dodatni lek (111,113). Odsustvo kliničkog izlječenja tj. održavanje simptoma i znakova bolesti uprkos primeni adekvatne inicijalne standardne terapije prema aktuelnim vodičima može se smatrati refraktarnom CDI.

Refraktarnu pa i rekurentnu CDI treba razlikovati od postinfektivnog sindroma iritabilnih creva koji se može javiti nakon različitih bakterijskih, ali i virusnih i parazitaranih crevnih infekcija uključujući i CDI (115-120). Sindrom iritabilnih creva se definiše kao postojanje rekurentnog bola u trbuhu najmanje jednom nedeljno tokom tri meseca uz dve od tri sledeće karakteristike: bol vezan za defekaciju, poremećen broj crevnih pražnjenja tokom dana, poremećena konzistencija stolice (120). Postinfektivni sindrom iritabilnih creva karakteriše iznenadni nastanak navedenih tegoba nakon epizode crevne infekcije (115). Prema različitim istraživanjima postinfektivni sindrom iritabilnih creva javlja se kod 4-25% bolesnika nakon preležane CDI i osim navedenih simptoma podrazumeva i odsustvo mikrobiološkog dokaza o perzistentnoj CDI (120-122). Prema engleskom vodiču za lečenje CDI smatra se da ukoliko proliv perzistira uprkos 20 dana adekvatne terapije za CDI, pri čemu je bolesnik klinički stabilnog stanja, nema bolove u trbuhu niti distenziju creva, broj neformiranih stolica dnevno je značajno smanjen, a broj leukocita u granicama referentnih vrednosti perzistentan proliv mogao bi biti posledica postinfektivnog sindroma iritabilnih creva (123). U tim slučajevima bolesnik se može tretirati antiperistalticima poput loperamida čija je primena inače kontraindikovana kod aktivne CDI (123). Bolesnik naravno mora biti pod nadzorom, mora postojati jasan povoljan odgovor na primenjenu terapiju za CDI i mora se jasno isključiti postojanje dilatacije kolona (123).

### ***1.5. Terapija C. difficile infekcije***

Odluka o tome koji će se lek primeniti za lečenje CDI zavisi od težine kliničke slike tj. forme bolesti i od toga da li se radi o inicijalnoj epizodi, prvom, drugom ili višestrukom recidivu bolesti (65,77,109,123).

Osim odgovarajuće antibiotske terapije, lečenje bolesnika sa CDI podrazumeva i korekciju elektrolitnog disbalansa, rehidraciju, prevenciju komplikacija, pre svega duboke venske tromboze, izbegavanje primene antiperistaltičkih agenasa, antacida, blokatora H<sub>2</sub> receptora, inhibitora protonске pumpe i druge mere suportivne terapije (77).

### **1.6. Standardna terapija *C. difficile* infekcije**

Osnovu terapije CDI čine metronidazol i vankomicin primenjeni peroralno.

#### **1.6.1. Metronidazol**

U lečenju CDI metronidazol se može koristiti primenjen peroralno ili intravenski u zavisnosti od težine bolesti (65,77,109,123).

Metronidazol je derivat imidazola. Aktivan je protiv širokog spektra patogenih mikroorganizama, uključujući vrste iz rodova *Bacteroides*, *Fusobacteria*, *Clostridia*, *Eubacteria*, deluje na anaerobne koke i *Gardnerella vaginalis* (124).

Osim u lečenju CDI, metronidazol se koristi u profilaksi postoperativnih infekcija izazvanih anaerobnim bakterijama, terapiji septikemije, bakterijemije, peritonitisa, apscesa mozga, nekrotizirajuće pneumonije, osteomijelitisa, puerperalne sepse, pelvičnog apscesa, pelvičnog celulitisa i postoperativnih infekcija rana iz kojih su izolovane anaerobne bakterije (123). Koristi se još i u lečenju đardijaze, bakterijske vaginoze, trihomonijaze, amebijaze i u eradikaciji *Helicobacter pylori* (124).

Nakon peroralne primene metronidazol se dobro resorbuje, bioraspoloživost je skoro 100%, a hrana ne utiče na resorpciju leka (125). Maksimalna koncentracija leka u serumu postiže se nakon oko 1h od administracije i slična je maksimalnoj serumskoj koncentraciji koja se dostiže nakon intravenske primene (125).

Metronidazol se široko distribuira u svim tkivima. Volumen distribucije leka iznosi  $1,1 \pm 0,4$  l/kg. Prolazi hematoencefalnu i placentalnu barijeru i izlučuje se u majčino mleko gde dostiže koncentraciju ekvivalentnu onoj u plazmi, zbog čega je

potreban oprez prilikom primene kod trudnica i dojilja (124). Samo 10% leka se vezuje za proteine plazme.

U toku CDI intravenski primenjen metronidazol osim bilijarnom ekskrecijom u lumen creva stiže i putem sekrecije kroz inflamiranu sluznicu kolona. Na isti način metronidazol dolazi u lumen creva i nakon peroralne primene jer je, kako je već pomenuto, resorpcija peroralno unetog metronidazola iz tankog creva velika i samo 6-15% ovako unetog leka se ekskretuje stolicom u nepromenjenom obliku (77). Koncentracija metronidazola u fecesu značajno opada po započinjanju terapije uporedo sa regresijom zapaljenja sluznice kolona i prestankom proliva što ukazuje na neopravdanost primene metronidazola duže od 10-14 dana predviđenih vodičima i „profilaktičke“ primene u cilju sprečavanja pojave prve epizode ili recidiva CDI kod bolesnika koji primaju drugu antibiotsku terapiju (77).

Poluvreme eliminacije metronidazola je  $8,5 \pm 2,9$  sati. Najmanje 50% leka se ekskretuje urinom u formi metronidazola i njegovih metabolita (124). Nije neophodno modifikovati dozu leka kod pacijenata sa bubrežnom insuficijencijom koji su na intermitentnoj peritonealnoj dijalizi ili kontinuiranoj ambulatnoj peritonealnoj dijalizi. Brzo se eliminiše iz plazme hemodijalizom (124).

Metronidazol se uglavnom metaboliše oksidacijom u jetri. Znatni poremećaj klirensa metronidazola se može javiti kod uznapredovale insuficijencije jetre (124).

Neželjeni efekti metronidazola su retki i uglavnom se svode na gastrointestinalnu nepodnošljivost-metalan ukus u ustima, gubitak apetita, mučninu, a veoma retko se javljaju ozbiljniji neželjeni efekti u vidu neuropatije-periferne ili optičke, i to nakon dugotrajne primene. Veoma retko može dovesti do raša, svraba, crvenila kože, kao i poremećaja u krvnoj slici (124).

Pacijente treba savetovati da ne uzimaju alkohol za vreme terapije metronidazolom i najmanje 48 sati po prestanku terapije zbog mogućnosti nastanka disulfiramske reakcije (124). Zabeležene su psihotične reakcije kod pacijenata koji su istovremeno koristili metronidazol i disulfiram. Potreban je oprez i prilikom istovremene primene metronidazola i oralnih antikoagulanasa tipa varfarina kada se beleži pojačano dejstvo

antikoagulantne terapije te može biti neophodna redukcija doze antikoagulanasa. Treba kontrolisati protrombinsko vreme (124).

### **1.6.2. Vankomicin**

Vankomicin je lek iz grupe glikopeptidnih antibiotika. Baktericidno dejstvo vankomicina se zasniva primarno na inhibiciji sinteze ćelijskog zida bakterija. Pored toga, vankomicin utiče na permeabilnost ćelijske membrane i sintezu ribonukleinske kiseline. Na vankomicin su osetljive isključivo Gram-pozitivne bakterije. Uobičajeno osetljive vrste su Gram-pozitivni aerobi: *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, koagulaza-negativne stafilokoke, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus* grupe B, C i G, *Streptococcus pneumoniae* i viridans streptokoke, kao i Gram pozitivni anaerob- *C. difficile* (126). U slučaju Gram pozitivnog aeroba *Enterococcus faecium*-a stečena rezistencija može biti problem (126).

Vankomicin primenjen peroralno, u vidu kapsula ili rastvorenog praška za intravensku injekciju/infuziju, je delotvoran samo kod enterokolitisa izazvanog *Staphylococcus aureus*-om (uključujući meticilin-rezistentne sojeve) i pseudomembranoznog kolitisa izazvanog bakterijom *C. difficile* (126,127). Peroralni oblik vankomicina nije efektivan protiv drugih infekcija te se za sve ostale indikacije vankomicin primenjuje intravenski (126,127). Sa druge strane, parenteralno primenjen lek nije efektivan u lečenju CDI jer se nakon intravenske primene ne postiže potrebna koncentracija leka u stolici (126,127).

Nakon peroralne primene vankomicin se ne resorbuje u značajnoj meri iz intaktnog gastrointestinalnog trakta, a takođe uobičajeno ne prolazi u sistemsku cirkulaciju čak i ako postoje inflamatorne lezije u crevima (126,127). Retko se mogu javiti merljive koncentracije u serumu kod pacijenata sa aktivnim pseudomembranoznim kolitisom izazvanim *C. difficile*, a ako postoji oštećenje bubrega postoji mogućnost akumulacije leka (126). Peroralno primenjen vankomicin se eliminiše nepromenjen putem stolice.

U istraživanju *Gonzales*-a i saradnika utvrđeno je da je fekalna koncentracija vankomicina nakon peroralno unetog leka u vidu rastvorenog praška za intravensku

infuziju, u dozi 250 mg na 6h i 500 mg na 6h iznosila preko 2000 mg/l i 4000 mg/l, respektivno, što je daleko više od MIC<sub>90</sub> („*Minimal Inhibitory Concentration*“ - minimalna inhibitorna koncentracija) vankomicina za *C. difficile* koja iznosi 1 mg/l (128). Fekalna koncentracija bila je niža kod bolesnika koji su imali više od 4 neformirane stolice dnevno, što je verovatno posledica većeg volumena stolice (128). Međutim, i u tom slučaju postignute fekalne koncentracije vankomicina su bile 100 do 1000 puta više od MIC vankomicina za *C. difficile* te stoga ovo nema kliničkog značaja (128).

Osim peroralno, u lečenju CDI vankomicin se može primeniti i putem eneme i to u dozi od 500 mg na 6h rastvoren u 500ml fiziološkog rastvora (77). Indikacija za primenu vankomicina puteme eneme je komplikovana CDI sa prisutnim ileusom (77).

Najčešći neželjeni efekti peroralno primenjenog vankomicina su gastrointestinalne tegobe- mučnina, bol u trbuhu, povraćanje, ali i hiperkalijemija (127). I nakon peroralne primene vankomicina zabeleženo je neželjeno dejstvo slično tzv. „*Red Man*“ sindromu koje se karakteriše simptomima anafilaktoidne reakcije - hipotenzijom, dispneom, urtikarijom, bolom i spazmom mišića grudnog koša i leđa, svrabom i crvenilom gornje polovine tela (127). Ova neželjena reakcija obično prolazi nakon 20 minuta, ali može perzistirati i nekoliko sati. Iako nefrotoksičnost i drugi sistemski neželjeni efekti vankomicina poput ototoksičnosti i toksičnog dejstva na kostnu srž, uobičajeno ne predstavljaju potencijalna neželjena dejstva prilikom peroralne primene vankomicina zbog njegove zanemarljive resorpcije, ipak su pojedine kliničke studije pokazale da su osobe starije od 65 godina u povećanom riziku od razvoja nefrotoksičnosti (127). Takođe je pokazano da su u pojedinačnim slučajevima postojanja značajne inflamacije sluznice kolona i prethodne bubrežne insuficijencije nakon peroralno unetog vankomicina u serumu postignute koncentracije koje su blizu terapijskih koncentracija potrebnih za lečenje sistemskih infekcija (127). U tim slučajevima mogu se očekivati sva sistemski neželjena dejstva vankomicina koja mogu nastati nakon njegove intravenske primene.

Nakon peroralne primene vankomicina lek ne ostvaruje interakcije sa drugim lekovima (127).

Dozvoljena je peroralna primena vankomicina kod dece kao i kod trudnica i dojilja (127). S obzirom na to da je sistemska resorpcija minimalna ne očekuje se značajna koncentracija u majčinom mleku (127). Primena vankomicina peroralno je kontraindikovana u slučaju postojanja alergije na vankomicin (127).

### **1.6.3. Preporuke za lečenje *C. difficile* infekcije**

#### *Laka do umereno teška forma bolesti*

U zbrinjavanju najlakših formi bolesti nekada nije ni neophodno primeniti antibiotsku terapiju za CDI već je dovoljno samo prekinuti aktuelnu antibiotsku terapiju koju bolesnik prima zbog neke druge, primarne infekcije, a koja je i dovela do narušavanja crevne mikroflore i razvoja CDI (109). Ako prekid antibiotske terapije ne dovede do nestanka tegoba unutar 48h, započinje se antibiotska terapija prema prihvaćenim aktuelnim protokolima. Prema SHEA/IDSA vodiču za lečenje CDI iz 2010. godine, evropskom vodiču iz 2014. godine kao i engleskom vodiču iz 2013. godine inicijalna epizoda CDI u slučaju da se radi o lakoj do umereno teškoj formi bolesti leči se primenom metronidazola *per os* u dozi od 3x500mg dnevno tokom 10-14 dana, ukoliko ne postoje kontraindikacije za primenu ovog leka (alergija na lek, trudnoća, dojenje) (65,77,123). Ukoliko nakon 7 dana terapije ovim lekom ne dođe do prestanka simptoma bolesti može se preći na terapiju vankomicinom u dozi 4x125mg *per os* dnevno 10-14 dana (65,77,123). Takođe, u slučajevima kada postoji intolerancija na peroralno primenjen metronidazol, isti se može primeniti intravenski u istoj dozi. Prema ESCMID („*European Society for Clinical Microbiology and Infectious Disease*“ - evropsko društvo za kliničku mikrobiologiju i infektivne bolesti) vodiču iz 2014. godine u lečenju lake do umereno teške forme bolesti može se i inicijalno primeniti vankomicin ili pak fidaksomicin, u standardnoj dozi u trajanju od 10 dana, i to u slučaju da se radi o bolesnicima koji su u visokom riziku za pojavu recidiva (77). Takođe, kod bolesnika sa autoimunskim inflamatornim bolestima creva savetuje se primena vankomicina odmah i u lečenju lake do umereno teške forme bolesti (77).

Prema poslednjem IDSA/SHEA vodiču iz 2017. godine vankomicin i fidaksomicin se preporučuju za lečenje svake inicijalne epizode CDI, uključujući laku i umereno tešku

formu bolesti (129). U uslovima ograničene dostupnosti vankomicina i fidaksomicina može se savetovati metronidazol u lečenju lake i umereno teške inicijalne epizode CDI. Savetuje se izbegavanje produžene i ponavljane primene metronidazola zbog rizika od kumulativne i potencijalno ireverzibilne neurotokisčnosti (129).

### *Teška forma bolesti*

Teška forma bolesti, u odsustvu komplikacija, leči se primenom vankomicina u dozi 4x125 mg *per os* dnevno 10-14 dana, a prema aktuelnom evropskom kao i najnovijem IDSA/SHEA vodiču, u lečenju teške forme ravnopravno se može koristiti i fidaksomicin u dozi 2x200 mg *per os* dnevno 10 dana u zemljama u kojima je dostupan (77,109,123,129). Kao alternativna terapija može se primeniti jedna od sledećih opcija: teikoplanin, tigeciklin, fekalna transplantacija i drugo (109). Ukoliko nakon 7 dana primene predložene terapije ne dolazi do poboljšanja ili dolazi do pogoršanja bolesti savetuje se da se u terapiju uvede fidaksomicin 2x 200mg *per os* ako je bolesnik bio lečen vankomicinom, ili u slučaju razvoja ileusa savetuje se primena terapije predviđene za lečenje teške, komplikovane CDI (123). Kao dopunska terapija može se primeniti tigeciklin intavenski ili humani intravenski imunoglobulini (IVIG) (109,123).

### *Teška komplikovana forma bolesti ili fulminantni kolitis*

Ova forma bolesti leči se kombinovanom terapijom metronidazolom i vankomicinom i to vankomicinom u dozi od 4x500mg dnevno *per os* (ili putem nazogastrične sonde u slučaju ileusa) uz metronidazol 3x500mg primenjen intravenski (77,109, 129). Terapija traje 10-14 dana, a po potrebi i duže, pri čemu se može preći na standardnu terapiju za tešku bolest nakon saniranja komplikacija (65,77,109,129). U slučaju postojanja ileusa ili toksičnog megakolona ovoj kombinaciji se dodaje i vankomicin primenjen putem klizme u dozi od 4x500mg dnevno rastvoren u 100ml ili 500ml 0,9% NaCl (77,129). Zbog primene 0,9% NaCl kao rastvarača za primenu vankomicina putem eneme potreban je oprez zbog mogućeg nastanka elektrolitnog disbalansa, pre svega hiperhloremije (77). Smatra se da u uslovima postojanja paralitičkog ileusa peroralno primenjen vankomicin neće stići do svih, a naročito distalnih delova kolona te se zbog toga lek daje i rektalnim putem uz oprez da ne dođe do perforacije creva

(77). U lečenju teških, ali i komplikovanih formi bolesti, može se u terapiju dodati i tigecklin u uobičajenim dozama, ukoliko standardna terapija ne dovede do željenog efekta (130). U slučaju da standardna terapija ne dovede do poboljšanja mogu se primeniti i humani IVIG (131). Ukoliko je potrebno hirurško zbrinjavanje fulminantnog kolitisa sprovodi se subtotalna kolektomija ili se izvodi „loop“ ileostoma sa lavažom kolona uz anterogradno dodavanje vankomicina direktno u kolon putem ileostome (77,129,132). Subtotalna kolektomija sprovodi se u slučaju postojanja toksičnog megakolona, perforacije creva, akutnog abdomena ili kod bolesnika sa septičnim šokom i pridruženom organskom disfunkcijom (129,133).

### *Prvi recidiv bolesti*

Dugo primenjivan princip lečenja prvog recidiva CDI bio je da se prvi recidiv CDI leči se po istom protokolu kao i prva epizoda, u zavisnosti od težine bolesti (65, 77). Prema evropskom vodiču iz 2014. godine preporuka je da se u terapiji prvog recidiva prednost ipak daje primeni vankomicina *per os* 4x125mg dnevno, a navodi se i primena fidaksomicina, bez obzira na težinu bolesti (109). Prema najnovijem IDSA/SHEA vodiču iz 2017. godine ukoliko je u lečenju prve epizode CDI primenjen metronidazol prvi recidiv se leči vankomicinom u dozi od 4x125mg *per os* tokom 10 dana (129). Ukoliko je prva epizoda lečena vankomicinom savetuje se da se prvi recidiv leči fidaksomicinom 2x200mg *per os* tokom 10 dana ili da se primeni produžena i pulsna terapija vankomicinom sa postepenom redukcijom doze i to po šemi: 4x125mg *per os* dnevno tokom 10- 14 dana, potom 2x125mg *per os* dnevno tokom 7 dana, potom 1x125mg *per os* 7 dana, a potom 125mg *per os* na drugi ili treći dan tokom 2-8 nedelja (129).

### *Drugi i višestruki recidiv bolesti*

Drugi recidiv CDI leči se produženom terapijom vankomicinom uz postepeno smanjenje ukupne dnevne doze i produženje doznog intervala po prethodno navedenoj šemi (109,129). Moguće je i doziranje vankomicina 4x125mg *per os* tokom 10 dana nakon čega sledi pulsno doziranje 125-500mg *per os* dnevno na 2-3 dana tokom bar 3 nedelje (105). Alternativa je primena fidaksomicina 2x200mg *per os* ili primena vankomicina u dozi 4x125mg *per os* tokom 10 dana nakon čega sledi tzv. „chaser“ terapija rifaksimonom



u dozi od 3x400mg *per os* tokom 20 dana (109,129). Za treći i svaki sledeći recidiv savetuje se primena fekalne transplantacije ukoliko je ista dostupna i nije kontraindikovana (77,109,129). Za sada se ne preporučuje primena vankomicina ili druge terapije za lečenje CDI duže od 10-14 dana kod bolesnika kod kojih su tegobe prestale, a kod kojih postoji potreba za nastavkom druge antibiotske terapije u lečenju neke pridružene infekcije niti se preporučuje ponovno započinjanje terapije za CDI bolesnicima kod kojih je ubrzo nakon izlečenja potrebno primeniti antibiotike u lečenju druge infekcije (129).

### **1.7. Teikoplanin-mehanizam dejstva, farmakokinetske i farmakodinamske karakteristike i neželjeni efekti**

Teikoplanin je glikopeptidni antibiotik sa dokazanom aktivnošću protiv Gram pozitivnih aerobnih (*Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus viridans*, streptokoke grupe G i H, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* – uključujući i MRSA, *Enterococcus faecalis*, *Corynebacterium jeikeium*) i anaerobnih bakterija (*C.difficile*, *Peptostreptococcus*) (134). Proizvodi ga *Actinoplanes teichomyceticus* (134). Teikoplanin može delovati bakteriostatski ili baktericidno u zavisnosti od koncentracije leka i osetljivosti određene bakterije.

Svoj mehanizam dejstva teikoplanin ostvaruje inhibicijom sinteze ćelijskog zida bakterija vezujući se za D-alanil-D-alanin ostatak peptapeptidnih bočnih lanaca prekursora peptidoglikana (134). Gram negativne bakterije imaju urođenu rezistenciju na glikopeptidne antibiotike. Druge bakterije sa urođenom rezistencijom na teikoplanin su *Chlamydia spp*, *Mycoplasma spp*, *Legionella pneumophila* (134). Teikoplanin ima delimičnu ukrštenu rezistenciju sa vankomicinom. Bakterije koje mogu steći rezistenciju na teikoplanin su *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus* i *Staphylococcus hominis* (134). Rezistencija na vankomicin može po fenotipu biti podeljena u nekoliko grupa- van A, van B, van C, van D, van E i van H (134). Neki sojevi koji su rezistentni na vankomicin (npr. van B i van C) osetljivi su na teikoplanin (134).

Indikacije za primenu teikoplanina su komplikovane infekcije kože i mekih tkiva, infekcije kostiju i zglobova, bolničke i vanbolničke pneumonije, komplikovane infekcije urinarnog trakta, infektivni endokarditis, peritonitis povezan sa kontinuiranom peritonelanom dijalizom, bakterijemija povezana sa bilo kojim od navedenih stanja, kao i *C. difficile* enterokolitis (134). Za sve indikacije osim *C. difficile* enterokolitisa teikoplanin se primenjuje parenteralno (intravenski ili intramuskularno), dok se za CDI primenjuje peroralno s obzirom na karakterističnu farmakokinetiku (134).

Nakon intravenske primene vezuje se za albumine plazme (90-95%), metaboliše se u jetri i izlučuje urinom (134). Interakcije su moguće sa brojnim lekovima: diureticima Henleove petlje, amfotericinom B, ciklosporinom i drugima te se time povećava rizik od nefrotoksičnog dejstva leka (134).

Slično vankomicinu, teikoplanin unet *per os* gotovo se uopšte ne resorbuje iz gastrointestinalnog trakta i stoga postiže visoku koncentraciju u fecesu, što omogućava njegovu peroralnu primenu u lečenju CDI gde ostvaruje lokalni efekat (134). Nakon peroralno unetih 250mg ili 500mg teikoplanina od strane zdravih dobrovoljaca, teikoplanin se ne detektuje u serumu niti u urinu, već samo u fecesu gde se detektuje oko 45% unete doze unutar 24h i to u vidu nepromenjenog leka (134). Peroralno primenjen teikoplanin ne ostvaruje interakcije sa drugim lekovima.

Neželjeni efekti teikoplanina su: mogućnost alergijske reakcije uključujući i anafilaktički šok, retka pojava trombocitopenije, leukopenije, eozinofilije, umeren porast aminotransferaza i alkalne fosfataze, kao i moguća nefrotoksičnost i ototoksičnost (134). Teikoplanin bi trebalo primenjivati sa oprezom u kombinaciji sa lekovima koji takođe imaju nefrotoksično i ototoksično delovanje (134). Postojanje tzv. "Red man" sindroma pri brznoj intravenskoj aplikaciji vankomicina nije kontraindikacija za primenu teikoplanina kod istog bolesnika. Svi neželjeni efekti teikoplanina, osim alergijskih reakcija, povezani su sa njegovom sistemskom primenom te je *per os* primena u lečenju CDI potpuno bezbedna i ne nosi rizik od sistemskih toksičnih efekata (134).

## **1.8. Teikoplanin-dosadašnja iskustva u lečenju *C. difficile* infekcije**

Teikoplanin se u literaturi spominje kao jedan od alternativnih lekova u terapiji CDI (109). Teikoplanin pokazuje dobru *in vitro* aktivnost protiv *C. difficile*. MIC teikoplanina za *C. difficile* je i do 4 puta manja od MIC vankomicina (0,12-0,5 $\mu$ g/ml za teikoplanin i 0,5-2 $\mu$ g/ml za vankomicin), što bi moglo da objasni uspeh teikoplanina u lečenju bolesnika kod kojih vankomicin ne dovede do izlečenja (135).

Istraživanja o primeni teikoplanina u lečenju CDI potiču iz devedesetih godina XX veka, kada nije bilo novih, hipervirulentnih sojeva *C. difficile* niti je CDI bila globalna epidemija (136-138). U pomenutim istraživanjima teikoplanin se pokazao kao neinferioran u odnosu na vankomicin, pri čemu je učestalost recidiva CDI bila niža kod bolesnika lečenih teikoplaninom (136-138). Istraživanja su obuhvatala bolesnike kako sa umerenom, tako i one sa teškom formom CDI i pseudomembranoznim kolitisom (136-138). Doze teikoplanina koje su primenjivane bile su od 2x100mg *per os* do 2x400mg *per os* dnevno (136-138).

## **1.9. Druga alternativna terapija *C. difficile* infekcije**

### **1.9.1. Fidaksomicin**

Fidaksomicin (ranije OPT-80) je novi lek iz grupe makrociklinskih antibiotika, koji se pokazao *in vitro* efikasnijim u delovanju na *C. difficile* od vankomicina (113,139). Makrociklinski antibiotici su grupa antibiotika sa veoma uskim antimikrobnim spektrom delovanja, ali je njihova registracija odobrena zbog izrazito povećane smrtnosti od pseudomembranoznog kolitisa u bolničkim uslovima.

Fidaksomicin deluje tako što inhibira sigma jedinicu bakterijske RNK polimeraze i time sprečava sintezu proteina odnosno toksina bakterije (139,140). Takođe, fidaksomicin inhibira i stvaranje spora što je značajno sa aspekta patogeneze CDI, transmisije infekcije i pojave recidiva (141). Fidaksomicin pokazuje i značajan postantibiotski efekat u trajanju i do 21 dan, što može objasniti manju učestalost recidiva CDI nakon njegove primene u odnosu na drugu terapiju (142).

Fidaksomicin pokazuje selektivnu baktericidnu aktivnost protiv bakterija iz roda *Clostridium*, posebno protiv *C. difficile* (139,143-145). Aktivnost koju fidaksomicin pokazuje protiv *C. difficile* je 10 do 100 puta veća u odnosu na aktivnost koju pokazuje protiv drugih Gram pozitivnih bakterija, dok ne pokazuje skoro nikakvu aktivnost protiv Gram negativnih bakterija i drugih komensala u crevima. Ovakva ciljana i selektivna aktivnost fidaksomicina za posledicu ima minimalan efekat na uobičajenu crevnu mikrofloru, dovodeći tako do manje recidiva u odnosu na druge lekove za CDI (143-145)

Oralno primenjen fidaksomicin se minimalno resorbuje iz creva, ali postiže optimalnu inhibitornu koncentraciju u stolici, kao i njegov slabije efikasan metabolit nastao intestinalnom hidrolizom, OPT-1118 (146). Fidaksomicin nema uticaja na bubrežnu funkciju te se može primeniti i kod osoba sa insuficijencijom bubrega (146). Takođe, fidaksomicin i njegov aktivni metabolit OPT-1118 se ne metabolišu u jetri te se lek može primeniti i kod osoba sa insuficijencijom jetre (146). Nisu zabeležene značajnije interakcije leka sa drugim lekovima (146).

S obzirom na zanemarljivu koncentraciju koja se postiže u plazmi, fidaksomicin se dobro podnosi i nema značajnih sistemskih neželjenih efekata (146). Može se javiti preosetljivost na sastavne delove leka, svrab, mučnina, gađenje, povraćanje, bol u abdomenu, gastrointestinalna krvarenja, anemija i neutropenija (146).

Lek se ne preporučuje u toku trudnoće i laktacije, kao ni kod osoba mlađih od 18 godina, s obzirom na to da njegova primena u ovim grupama nije dovoljno ispitana. (146).

U lečenju CDI fidaksomicin se dozira 200mg dva puta dnevno *per os* 10 dana (146).

Na osnovu velikih randomizovanih kliničkih istraživanja, fidaksomicin se pokazao kao neinferioran u odnosu na vankomicin u lečenju CDI, s tim što je dovodio do značajno manje stope recidiva u odnosu na vankomicin (111,113). Prema poslednjim vodičima za lečenje CDI fidaksomicin je odobren za lečenje umereno teške i teške CDI, ali ne i komplikovanih i refraktarnih formi bolesti (109,129). Zbog manje stope recidiva

do koje dovodi, fidaksomicinu se daje prednost u lečenju bolesnika koji su u većem riziku od recidiva, bolesnicima sa rekurentnom bolešću, a naročito onima sa multiplim recidivima (77,109,129).

### **1.9.2. Tigeciklin**

Tigeciklin je antibiotik iz grupe glicilciklina koji ima širok spektar delovanja protiv Gram pozitivnih i Gram negativnih aeroba i anaeroba (147). Glavne indikacije za primenu tigeciklina jesu teške intraabdominalne infekcije, kao i teške infekcije kože i mekih tkiva, a poslednjih godina više istraživanja pokazalo je njegovu uspešnost i u lečenju CDI (130,147). Ono što je značajno, jeste da se tigeciklin pokazao kao uspešan u lečenju kako teških, tako i komplikovanih formi bolesti, kao i onih bolesnika kod kojih je izostao odgovor nakon primene standardne terapije (130,148-152).

Tigeciklin se u lečenju CDI primenjuje intravenski u standardnoj dozi (50 mg dva puta dnevno, uz inicijalnu udarnu dozu od 100 mg) (147). Intravenska primena predstavlja njegovu prednost u odnosu na glikopeptidne antibiotike, jer je primena na ovaj način pogodna i za bolesnike koji imaju ileus ili toksični megakolon i kod kojih *per os* unet lek ne može stići u sve željene delove debelog creva zbog postojanja paralitičkog ileusa, a takodje i *per rectum* dat lek teško može stići do ascendentnog i transversalnog kolona. Prednost tigeciklina jesu i njegove veoma male minimalne inhibitorne koncentracije za *C. difficile* (0,06-0,25µg/ml), kao i činjenica da njegova primena ne utiče bitnije na normalnu crevnu floru (147). S obzirom da je mehanizam dejstva tigeciklina inhibicija sinteze proteina, svoje dejstvo u CDI tigeciklin ispoljava inhibicijom produkcije toksina (147).

### **1.9.3. Rifaksimim**

Rifaksimim je strukturni analog rifamicina, koji se, za razliku od rifamicinskih antibiotika (rifampicin, rifapentin i rifabutin) minimalno resorbuje iz gastrointestinalnog

trakta (153). Takođe se ne razgrađuje pod dejstvom želudačne kiseline (154). Pokazuje dobru *in vitro* aktivnost protiv *C. difficile*. Osim CDI, ostale indikacije za njegovu primenu su putnička dijareja, sindrom iritabilnih creva i prevencija i lečenje hepatičke encefalopatije (155).

Rifaksimim pokazuje aktivnost protiv većine Gram pozitivnih, Gram negativnih aeroba i anaeroba, a i pored širokog spektra dejstva ne narušava bitnije normalnu crevnu floru (155).

Postoji nekoliko istraživanja o primeni rifaksimina u lečenju CDI (152,153,156-158). Basu i saradnici su pokazali uspeh rifaksimina u lečenju bolesnika sa CDI kod kojih nije postignuto izlečenje primenom metronidazola (156). *Garey* i saradnici su dali prikaz tri slučaja CDI izlečena rifaksiminom nakon prethodne neuspešne primene metronidazola i vankomicina (157). U istraživanju *Johnson*-a i saradnika rifaksimim je primenjen u vidu tzv. „*chaser*“ terapije tj. primenjen je nakon vankomicina (158). Nakon ovakve terapije kod jednog od 7 bolesnika došlo je do recidiva (158).

Danas, preporuka za primenu rifaksimina u lečenju CDI upravo podrazumeva primenu rifaksimina u vidu „rifaksimim *chaser*-a“ tj. primene rifaksimina nakon završene standardne terapije vankomicinom kod bolesnika sa refraktornom i rekurentnom formom CDI (129). Uobičajena doza je 200-400mg dva do tri puta dnevno tokom 14 dana, mada se u IDSA/SHEA vodiču savetuje terapija u trajanju od 21 dan (129, 158). Rifaksimim se uglavnom dobro podnosi, a mogući neželjeni efekti su nadutost, bol u truhu, mučnina, glavobolja, vrtoglavica i pojava perifernih otoka (155).

#### **1.9.4. Nitazoksanid**

Nitazoksanid je antiparazitarni lek koji pokazuje značajnu aktivnost *in vitro* protiv mnogih Gram pozitivnih i Gram negativnih bakterija, a takođe inhibira metabolizam anaerobnih bakterija, uključujući i *C. difficile* (159). U malim kliničkim istraživanjima nitazoksanid primenjen u dozi 500 mg dva puta dnevno tokom 10 dana se pokazao kao podjednako uspešan u lečenju CDI kao i metronidazol i vankomicin,

međutim, ova istraživanja su sprovedena na malom broju bolesnika te je na osnovu njih teško doneti ispravan zaključak o neinferiornosti nitazoksanida u odnosu na standardnu terapiju (160,161).

U istraživanju Musher-a i saradnika na bolesnicima koji nisu odgovorili na 14 dana terapije metronidazolom, primena nitazoksanida tokom 10 dana dovela je do izlečenja kod 54% bolesnika, mada je kod 20% bolesnika došlo do kasnijeg relapsa (162).

Potrebne su veće studije poređenja efikasnosti nitazoksanida sa standardnom terapijom radi utvrđivanja preciznije uloge nitazoksanida u lečenju CDI.

#### **1.9.5. Bizmut subsalicilat**

*In vitro* studije pokazale su da bizmut subsalicilat ima antibakterijsku aktivnost u koncentracijama koje postiže u digestivnom traktu, uključujući i aktivnost protiv *C. difficile*, pri čemu ne remeti bitno uobičajenu crevnu floru (163,164). Neželjeni efekti su neznatni- tamnija prebojenost jezika, stolice i pojava tinitusa (165). S obzirom na ove povoljne karakteristike, nova klinička istraživanja sa bizmut subsalicilatom bi mogla imati značaja jer bi ovaj preparat mogao biti dopunska, pomoćna terapija u lečenju CDI ili služiti za sekundarnu profilaksu recidiva u periodu oporavka normalne crevne flore (165).

#### **1.9.6. Ramoplanin**

Ramoplanin je glikopeptidni antibiotik u fazi kliničkih ispitivanja. U toku su studije o primeni ramoplanina u lečenju CDI i prevencije infekcije vankomicin-rezistentnim enterokokom kod osoba čiji je digestivni trakt kolonizovan ovom bakterijom (166,167).

Lek primenjen *per os* ne resorbuje se iz digestivnog trakta. *In vitro* studije pokazale su da ramoplanin pokazuje dobru aktivnost protiv većine Gram pozitivnih aeroba i anaeroba, uključujući i sojeve *C. difficile* rezistentne na vankomicin, ali ne pokazuje dobru aktivnost protiv većine Gram negativnih anaerobnih bakterija iz creva, što predstavlja njegovu prednost jer štedi normalnu crevnu floru (166). Nije zabeležena

unakrsna rezistencija ramoplanina i vankomicina. Studija *in vitro* na modelu creva kao i *in vivo* na animalnom modelu pokazala je dejstvo ramoplanina i na spore *C. difficile* (168)

U fazi II kliničkih istraživanja primena ramoplanina u dozi od 200 mg ili 400 mg dva puta dnevno tokom 10 dana se pokazala kao podjednako efikasna kao i primena vankomicina u terapiji CDI (167). Gastrointestinalne manifestacije predstavljaju retke neželjene efekte ramoplanina (167). Za sada ramoplanin nije odobren od strane FDA, ali klinička istraživanja su u toku.

### **1.9.7. Cadazolid**

Cadazolid je novi hibrid oksazolidinona i hinolona. Svoje dejstvo ostvaruje tako što inhibira inicijaciju sinteze proteina bakterijske ćelije. U kulturi toksigenog *C. difficile* cadazolid inhibira sintezu toksina A i B, a u *in vitro* uslovima inhibira i sporulaciju (169,170). Istraživanjem na modelu ljudskog creva pokazana je aktivnost ovog antibiotika protiv *C. difficile*, uz uzak spektar delovanja i minimalan nepovoljan efekat na crevnu mikrofloru (171). Kada je reč o farmakokinetici cadazolida nakon peroralne primene lek se praktično ne resorbuje i izlučuje se skoro kompletno nepromenjen u stolici (172). Lek postiže visoke koncentracije u crevima koje se održavaju i 14 dana nakon poslednje doze što omogućava efekat na *C. difficile* i nakon završene terapije u toku obnove crevne mikroflore, čime se smanjuje rizik od recidiva bolesti (172). Nisu zabeležena značajna neželjena dejstva leka.

Rezultati faze II kliničkog istraživanja pokazala su da su postignute slične stope izlečenja kod bolesnika sa CDI lečenih vankomicinom i cadazolidom pri čemu je stopa recidiva bila nešto manja kod bolesnika lečenih cadazolidom (173). U toku je istraživanje faze III.

### **1.9.8. Surotomicin**

Surotomicin je novi ciklični glikopeptid koji pokazuje značajnu *in vitro* aktivnost protiv *C. difficile* (174). Pretklinička istraživanja su pokazala efekat surotomicina na *C.*



*difficile* posredstvom smanjenja produkcije toksina, inhibicijom sinteze DNK i dejstvom na ćelijski zid *C. difficile* (174). Istraživanja faze I pokazala su da surotomicin ima minimalan efekat na uobičajenu crevnu floru (175). Rezultati treće faze kliničkog istraživanja pokazala su neinferiornost surotomicina u odnosu na vankomicin u pogledu stope kliničkog izlječenja CDI na kraju terapije, ali ne i superiornost u pogledu manje stope recidiva na kraju perioda praćenja (176).

### **1.9.9. Toksin-vezujući adsorbenti**

Jedna od terapijskih, neantibiotskih opcija u lečenju CDI jeste primena adsorbenata čiji je cilj da vežu toksine *C. difficile* pre nego što dođu do enterocita i izazovu bolest. U toksin-vezujuće adsorbente ubrajaju se jon-izmenjivačke smole, polimeri i oligosaharidi.

#### ***Jon-izmenjivačke smole***

Holestiramin i holestipol su analizirani kao alternativna sredstva u lečenju CDI zbog sposobnosti da zamenjuju jon hlora sa toksinom *C. difficile* i na taj način formiraju neapsorbilni kompleks (177). Nije dokazano da dodavanje holestiramina vankomicinu smanjuje rizik za pojavu recidiva, ali pojedini prikazi slučajeva opisali su efikasnost produžene primene holestiramina kod rekurentne CDI (178-180). Primena holestipola nije se pokazala efikasnija od placeba i dovela je do izlječenja kod samo 25% (181).

Primena jon-izmenjivačkih smola je bezbedna, a jedini neželjeni efekat je moguća pojava opstipacije. Međutim, mana ovih preparata jeste što imaju afinitet ka vezivanju vankomicina snižavajući njegovu koncentraciju u crevima čak za 80% kada se primenjuju istovremeno (178,182). Zbog toga određeni autori savetuju njihovu primenu bar dva sata nakon uzimanja vankomicina (65). Njihova sposobnost vezivanja metronidazola nije sa sigurnošću utvrđena, mada su neke studije to pokazale (182). Istraživanje *Pantosti*-ja i saradnika takodje je pokazalo izuzetni afinitet holestiramina ka teikoplaninu, redukujući njegovu koncentraciju u stolici na skoro nemerljive vrednosti (135). S obzirom na ovu osobinu holestiramina, jedini eventualni način njegove primene bio bi u vidu prolongirane terapije nakon završenog lečenja vankomicinom, teikoplaninom ili metronidazolom.

### ***Neantibiotski polimer-tolevamer***

Tolevamer je toksin-vezujuć polimer koji u dozama od 3-6 g dnevno vezuje toksine *C. difficile* u crevima (177). Prednost tolevamera u odnosu na standardnu terapiju jeste to što tolevamer nema antibiotski efekat te ne dovodi do daljeg oštećenja crevne flore niti do razvoja rezistentnih sojeva, a za razliku od holestiramina i holestipola ne vezuje vankomicin niti metronidazol (183). Rezultati istraživanja faze III pokazali su da tolevamer nije dovodio ni do kraćeg trajanja bolesti niti manje aktivnosti toksina u odnosu na kontrolnu grupu te je dalje istraživanje obustavljeno (177,184).

### **1.9.10. Probiotici**

Probiotik je živi mikroorganizam koji unet u adekvatnoj količini ima korist za domaćina i pomaže u popravljajući narušene mikroflore (185). Prema aktuelnim vodičima primena probiotika u lečenju i prevenciji CDI nije zvanična preporuka (77,109,129).

Povoljni efekti i mehanizmi delovanja probiotika su brojni. Pojedini probiotici, naročito oni koji sadrže kolonije *Lactobacillus sp.* i *Bifidobacterium sp.* smanjuju kolonizaciju creva *C. difficile* time što sekretuju kiseline koje snižavaju pH u crevima što ne pogoduje razvoju *C. difficile* (186). Probiotici deluju i kompeticijom sa patogenim bakterijama za vezna mesta u kolonu, sekretuju direktno antimikrobno-delujuće materije, stimulišu sekreciju mucina u crevima i tako štite epitel crevnog trakta, a opisano je i da mogu dovesti do zaustavljanja dijareje usled povećane reapsorpcije vode (186). Probiotici imaju i imunološke efekte, povećavajući ekspresiju imunoglobulina protiv toksina *C. difficile* i smanjujući inflamaciju u crevima (186).

Probiotici se doziraju prema broju kolonija bakterija ili gljivica (CFU-colony-forming units) koje sadrže, a sprovedena istraživanja su pokazala da je uglavnom uobičajena dnevna doza  $10^7$  do  $10^{12}$  CFU (186). Većina probiotskih preparata sadrže bakterije iz roda *Lactobacillus* i *Bifidobacterium sp.*, kao i gljivicu *Saharomyces boulardi*.

Nekoliko sojeva laktobacila je ispitivano u smislu prevencije i lečenja CDI (186,187). Iako je u nekoliko istraživanja pokazano da je kod bolesnika koji su primali

probiotike (*Lactobacillus rhamnosus GG* i *Lactobacillus plantarum 299v*) stopa recidiva CDI bila niža u odnosu na bolesnike koji ih nisu primali, razlika nije bila statistički značajna (187). Istraživanja o efikasnosti probiotika u primarnoj prevenciji CDI kod hospitalizovanih bolesnika pokazala su da bi kombinacija više probiotika mogla imati bolji efekat (186).

Primena probiotika smatra se bezbednom, mada su zabeleženi i slučajevi ozbiljnih neželjenih efekata kao što su razvoj bakterijemije, fungemije pa čak i fokalnih infekcija i endokarditisa (188,189).

*S. boulardi* u CDI deluje tako što sekretuje proteaze koje razgrađuju toksine *C. difficile*, ali i receptor za vezivanje toksina A, deluje antiinflamatorno smanjujući produkciju proinflatarnog interleukina 8, a opisano je i da primena *S. boulardi* povećava nivo anti-toksin A antitela IgG klase domaćina (190-192).

Istraživanje *Surawitz*-a i saradnika o primeni *S. boulardi* u lečenju recidiva CDI pokazalo je da primena ovog probiotika uz standardnu terapiju vankomicinom dovodi do manje stope ponovnog recidiva bolesti, mada je ovakav efekat pokazan samo u grupi bolesnika koji su lečeni maksimalnim dozama vankomicina-500mg 4 puta dnevno, a ne i u grupi bolesnika koji su dobijali niže doze (193). Prema drugom istraživanju *Mc Farland*-a i saradnika pokazana je efikasnost *S. boulardi* u prevenciji recidiva CDI i to kod bolesnika koji su već prethodno imali epizodu CDI, ali ne i kod onih sa prvom epizodom bolesti (194). U meta-analizi sprovedenoj 2006. godine o upotrebi probiotika u lečenju CDI koja je obuhvatila 6 randomizovanih kliničkih istraživanja sa ukupno 354 bolesnika, *S. boulardii* je bio jedini efikasan probiotik u smanjenju učestalost recidiva CDI (195).

Takođe, iako su različita istraživanja pokazala nešto povoljniji ishod bolesti ukoliko se *S. boulardi* primenjuje uz standardnu terapiju, ne postoje zvanične preporuke za primenu ovog probiotika u lečenju inicijalne epizode CDI niti za preventivno davanje tokom primene antibiotske terapije u cilju smanjenja učestalosti CDI. Zvanična preporuka za primenu *S. boulardi* odnosi se samo na primenu u vidu sekundarne prevencije recidiva bolesti i to u dozi  $2 \times 10^{10}$  CFU (2x500mg) tokom 28 dana (196).

I pored brojnih istraživanja o ulozi probiotika u lečenju i prevenciji CDI, ne postoje usaglašeni stavovi o njihovoj primeni, kako ni o jasnim indikacijama, tako ni o dužini njihove primene, pravnoj dozi mikroorganizama i optimalnom probiotiku. Zaključak većine istraživanja je da probiotici mogu imati efekat u lečenju i prevenciji recidiva bolesti, ali ne i u lečenju i primarnoj prevenciji inicijalne epizode CDI (186, 189).

### **1.9.11. Bakterioterapija fekalnom transplantacijom**

U slučajevima kada primena standardne antibiotske terapije ne dovede do definitivnog izlečenja *C. difficile* infekcije usled nemogućnosti da se adekvatno obnovi crevna flora, već dolazi do upornih, višestrukih recidiva, može se razmotriti tzv. bakterioterapija fekalnom transplantacijom, tj. primenom fecesa zdravog donora što bi predstavljalo neku vrstu idealnog probiotika (197).

Indikacije za fekalnu transplantaciju su (197):

☞ Rekurentna bolest

- Postojanje najmanje dva prethodna recidiva bolesti i recidiv nakon primene vankomicina u postepeno opadajućim dozama

- Bar dve epizode teške *C. difficile* infekcije koje su zahtevale hospitalizaciju

☞ Umereno teška forma CDI koja ne odgovara na bar 7 dana primene standardne terapije vankomicinom

☞ Težak (čak i fulminantni kolitis) koji ne reaguje na primenu standardne terapije nakon 48h

Za donore se uglavnom biraju ljudi iz bliskog kontakta sa obolelim, za koje se očekuje da imaju crevnu floru najslbličniju obolelom pre pojave bolesti, mada se ne isključuje ni transplantacija fecesa zdravog, nepoznatog donora, koja je pokazala podjednaku uspešnost (197). Poželjniji donori su muškarci, jer se smatra da žene češće mogu posedovati takav sastav crevne flore koji može pogodovati razvoju sindroma iritabilnih creva (197). Krv donora mora biti testirana na prisutvo HIV („*Human Immunodeficiency Virus*“-virus humane imunodeficijencije), sifilisa, hepatitis B i C

virusne infekcije, a takodje donori moraju obaviti i pregled stolice u cilju otkrivanja patogenih crevnih bakterija, jaja ili odraslih parazita (197). Za donore nisu pogodne osobe na imunosupresivnoj terapiji, sa istorijom o primeni psihoaktivnih supstanci poslednjih 6 meseci, drugim inokulacionim faktorima rizika u poslednjih 6 meseci, osobe koje su putovale u područja sa čestom pojavom putničke dijareje u poslednjih 6 meseci, osobe koje imaju inflamatorne bolesti creva, celijakiju, sindrom iritabilnog kolona, gastrointestinalni malignitet ili polipozu kao i osobe koje su bile podvrgnute antibiotskoj terapiji u poslednja tri meseca (197).

Neki od razloga zbog kojih bi bilo rizično primeniti fekalnu transplantaciju jeste primalac koji je na imunosupresivnoj terapiji ili ima bilo kakvu formu teške imunodeficijencije (197).

Primalac fecesa se uglavnom najpre leči tokom bar 3 dana primenom vankomicina ili fidaksomicina, a terapija se prekida 12-48h pre sprovođenja fekalne transplantacije (198). U slučaju administracije putem nazogastrične i nazoduodenalne sonde savetuje se prethodna primena inhibitora protonske pumpe kako bi se smanjila produkcija želudačne kiseline i omogućili bolji uslovi sa razvoj i kolonizaciju bakterija koje će se uneti fekalnom transplantacijom (197). Predlaže se primena lavaže kolona primenom polietilenglikola u cilju uklanjanja *C. difficile* i spora pre unosa fekalnog transplantata u slučaju da se administracija obavlja putem kolonoskopa (197,198). Jedna od opcija je i primena loperamida kako bi se zadržao feces unet transplantacijom (197).

Način administracije fecesa može biti različit i to putem kolonoskopa, eneme, ali je moguć i unos sa „gornje“ strane digestivnog trakta- putem nazogastrične, nazoduodenalne ili nazojejunalne sonde (198). Postoje i kapsule sa zamrznutim uzorkom fecesa čija efikasnost još uvek nije dovoljno potvrđena (199).

Rezultati dosadašnjih istraživanja sa primenom fekalne bakterioterapije su ohrabrujući. Prestanak aktuelnih tegoba postignut je kod oko 92% bolesnika. Nešto više recidiva zabeleženo je kod unosa fecesa putem gastroskopa ili nazogastrične sonde, kao i pri primeni manje od 50g fecesa (200). U slučaju neuspeha može se ponoviti postupak (198).

### **1.9.12. Kolonizacija netoksigenim sojevima *C. difficile***

Netoksigeni sojevi *C. difficile* ne poseduju gene za produkciju toksina i ne izazivaju bolest kod ljudi. Pretpostavlja se da između netoksigenih i toksigenih sojeva postoji kompeticija za vezivanje za ćelije crevnog epitela kao i za nutritivne materije te da bi prisustvo netoksigenog soja moglo dovesti do izećenja infekcije i sprečavanja pojave recidiva. Seal i saradnici su pokazali da je oralna administracija netoksigenog soja *C. difficile* dovela do izostanka ponovnih recidiva kod dva bolesnika sa prethodnim recidivima CDI (201). Takođe, sprovedena je dvostruko slepa randomizovana studija koja je poredila placebo i kolonizaciju netoksigenim sojem *C. difficile* koja je pokazala manju učestalost recidiva CDI kod bolesnika koji su bili kolonizovani i netoksigenim sojem ove bakterije (202). Eksperimenti na životinjama su pokazali da prisustvo netoksigenog soja smanjuje kolonizaciju toksigenim sojem *C. difficile* (203).

### **1.9.13. Imunoterapija**

Sa pojavom hipervirulentnog soja *C. difficile* i sve češćom pojavom bolesnika sa višestrukim recidivima kao i bolesnika refraktarnih na standardnu terapiju, imunoterapija postaje područje sve većeg interesovanja u lečenju CDI. Ona podrazumeva primenu antitela na toksine A i B *C. difficile* bilo putem pasivne imunizacije primenom humanih IVIG ili primenom monoklonskih antitela, a u procesu ispitivanja je i vakcina protiv *C. difficile*.

#### **1.9.13.1. Intravenski imunoglobulini**

Intravenski imunoglobulini imaju ulogu da unaprede imunski odgovor domaćina na *C. difficile* primenom gotovih antitela IgG klase na toksin A. Procenjeno je da

primena humanih IVIG u dozi od 0,15- 0,4g/kg telesne težine obezbeđuje dovoljnu koncentraciju antitela na toksin A *C. difficile*.

Mehanizam preko koga deluju humani IVIG u CDI nije sasvim razjašnjen, s obzirom na to da je za dejstvo ovih imunoglobulina potrebno da dodju u lumen creva gde će delovati na toksine *C. difficile* (204). Mišljenje je da se ovo postiže zahvaljujući eksudaciji serumskih proteina kroz inflamiranu sluznicu creva (204).

IVIG primenjuju se uz standardnu terapiju, u dozi 0,4g/kg, jednokratno ili tokom nekoliko dana. S obzirom na to da je procenjeno vreme poluživota imunoglobulina oko 3 nedelje, neki autori preporučuju primenu IVIG tri puta sa razmakom od tri nedelje (205).

Humane IVIG treba obazrivo primenjivati kod pacijenata sa deficitom IgA jer preparat sadrži male količine IgA pa takve osobe imaju sposobnost stvaranja antitela na njega, što kod sledeće primene preparata može izazvati anafilaktičku reakciju.

### **1.9.13.2. Monoklonska antitela**

Monoklonska antitela protiv toksina *C. difficile* imaju ulogu da vežu i neutrališu toksine kao i da pojačaju imunski odgovor obolelog. Monoklonska antitela daju se jednokratno u vidu supkutane injekcije ili intravenske infuzije i imaju dug poluživot, 14 do 21 dan, a po nekim istraživanjima čak i do 6 nedelja (206). Ovako dug poluživot monoklonskih antitela dovoljan je za obezbeđivanje imuniteta u bar delimičnom periodu kada najčešće dolazi do recidiva bolesti (206). Takođe, jednokratno davanje povećava komfor bolesnika i terapijsku komplijansu (206)

U fazi III kliničkog istraživanja pokazano je da bolesnici koji uz standardnu terapiju dobijaju bezlotoksumab imaju manju učestalost recidiva bolesti u odnosu na one koji su dobijali placebo uz standardnu terapiju (207). Bezlotoksumab je odobren od FDA za primenu kod odraslih osoba u visokom riziku od recidiva koji ujedno primaju standardnu terapiju za CDI, a nije preporučen za samostalno lečenje CDI (208).

### **1.10. Vakcinacija**

U toku su istraživanja faze II i III o aktivnoj imunizaciji protiv *C. difficile* sa tri različite vakcine (209-211). Jedna vakcina je toksoid vakcina koja sadrži inaktivirani toksin A i B, pokazala se kao imunogena i bila je dobro podnošena od strane zdravih dobrovoljaca (210,211). Prema rezultatima faze II istraživanja, vakcina se pokazala efikasna u sprečavanju pojave recidiva CDI kod 3 bolesnika (210,211). Bolesnici koji bi imali korist od vakcinacije su stariji bolesnici koji imaju suboptimalni imunski odgovor na infekciju, ali rezultati istraživanja su pokazali da mlađi dobrovoljci postižu bolji odgovor na vakcinu i da se bolje stvaraju antitela na toksin A nego na toksin B (212). Još dve potencijalne vakcine su u procesu istraživanja i završena su istraživanja faze 1, ali rezultati nisu poznati (213,214). Iako još nije u procesu kliničkih istraživanja, veoma je zanimljiva ideja o razvoju oralne vakcine, a kao potencijalni vektor ovakve vakcine navode se spore *Bacillus subtilis* (215).

### **1.11. Hirurško lečenje *C. difficile* infekcije**

Hirurško lečenje CDI svoju ulogu nalazi u slučajevima fulminantnog kolitisa kao i kod bolesnika koji ne reaguju na optimalnu antibiotsku terapiju (77,129). Kod bolesnika sa fulminantnim kolitisom i onih sa refraktarnom formom bolesti, kod bolesnika sa toksičnim megakolonom ili sepsom neophodna je što ranija hirurška konzultacija jer odlaganje hirurške intervencije povećava rizik od smrtnog ishoda nakon operacije (77,129). Laboratorijski pokazatelji koji ukazuju na potrebu za urgentnom kolektomijom su leukocitoza preko  $50000 \text{ Le/mm}^3$ , nivo serumskih laktata veći od  $5 \text{ mmol/l}$ , komplikovana CDI kod koje ne dolazi do poboljšanja nakon 5 dana konzervativne terapije, hipotenzija koja zahteva primenu vazopresora, poremećaj mentalnog statusa, perforacija creva, progresivna dilatacija kolona i nekontrolisano krvarenje (77,129). Važno je prepoznati faktore rizika za nepovoljan ishod nakon kolektomije, kako bi se adekvatno izabrali bolesnici koji zaista mogu imati korist od hirurške intervencije koji prevazilazi rizik od postoperativnog ili intraoperativnog smrtnog ishoda. Faktori rizika za lošu prognozu nakon kolektomije su znaci multiorganske disfunkcije i to hipotenzija koja zahteva primenu vazopresora, bubrežna



insuficijencija i respiratorna insuficijencija sa potrebom za mehaničkom ventilacijom (77). Kada se neki od ovih znakova razviju kod bolesnika, najverovatnije je već propušten pravi momenat za hiruršku intervenciju.

### **1.12. Mere prevencije *C. difficile* infekcije**

Kako primena antibiotske terapija predstavlja glavni faktor rizika za nastanak CDI, racionalna primena antibiotika i izbegavanje primene određenih grupa antibiotika, pre svega fluorohinolona i cefalosporina III generacije osim kada je to apsolutno indikovano, doprinose smanjenju učestalosti CDI.

Blagovremeno postavljanje sumnje na ovu bolest kao i brzo postavljanje dijagnoze omogućava ranu izolaciju bolesnika sa CDI. Savetuje se izolacija u posebnu sobu ili grupisanje bolesnika sa CDI u istoj sobi. Bolesnik sa CDI je izvor spora *C. difficile* u toku aktivne bolesti, ali i nakon prestanka proliva, iako se po nekim vodičima savetuje da izolacija bolesnika nije više neophodna nakon 48h od prestanka proliva (77,129).

Spore *C. difficile* se nalaze na koži, odeći i posteljini obolelog. U cilju smanjenja rizika od prenošenja spora savetuje se obavezna primena rukavica kao i zaštitne odeće od strane zdravstvenog osoblja kao i posetilaca obolelog pri ulasku u bolesničku sobu (77,129). Primena instrumenata za jednokratnu upotrebu (npr. termometara) takođe smanjuje rizik od širenja infekcije (129). Energično pranje ruku vodom i sapunom predstavlja još jednu važnu meru prevencije CDI jer je dokazano da se spore sa ruku skidaju upravo mehanički, dok primena raznih dezinfekcionih sredstava poput onih na bazi alkohola ne eliminišu spore *C. difficile*. Jedino dezinfekciona sredstva na bazi hlora, poput hlorheksidina deluju sporocidno na *C. difficile* (5,16).

Tokom 2016. godine započeta je klinička studija kojom je ispitivana efikasnost ribaksamaze, enzima u vidu tableta za peroralnu primenu, koji vrši degradaciju beta laktamskog prstena u lumenu tankog creva i na taj način vrši protekciju mikrobioma što za posledicu ima smanjenje rizika za nastanak CDI. U 2b fazi kliničkog ispitivanja dokazano je da primena ribaksamaze snižava rizik od razvoja CDI za 71,4% u poređenju sa placebo, čime ga je FDA (*Food and Drug Agency*) svrstala u lek izvanrednog značaja (216).

## 2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

### Radna hipoteza

1. Peroralna primena teikoplanina u lečenju teške i komplikovane *C. difficile* infekcije praćena je znaćajno manjom učestalošću recidiva u odnosu na terapiju vankomicinom, uz najmanje podjednak procenat klinićkog izlećenja.

2. Teikoplanin moće dovesti do izlećenja bolesnika sa *C. difficile* infekcijom kod kojih primena vankomicina i metronidazola nije dovela do prestanka tegoba.

### Ciljevi istraživanja

#### I deo istraživanja

1. Prikazati demografske, klinićke, laboratorijske i radiološke karakteristike bolesnika sa teškom i komplikovanom *C. difficile* infekcijom lećenih teikoplaninom i vankomicinom
2. Utvrditi koji su ribotipovi *C. difficile* prisutni u Srbiji

#### II deo istraživanja

1. Uporediti ishod CDI kod bolesnika sa teškim i komplikovanim oblikom bolesti lećenih teikoplaninom *per os* i bolesnika lećenih vankomicinom *per os* u pogledu:
  - procenta bolesnika kod kojih je postignuto klinićko izlećenje;
  - vremena od početka primene leka do prestanka dijareje ;
  - vremena od početka primene leka do razrešjenja ileusa;
  - učestalosti smrtnog ishoda.
2. Utvrditi uzroke i faktore rizika za smrtni ishod bolesnika sa teškom i komplikovanom CDI lećenih teikoplaninom i vankomicinom

3. Uporediti ishod CDI infekcije kod bolesnika sa teškim i komplikovanim oblikom bolesti lečenih teikoplaninom *per os* i bolesnika lečenih vankomicinom *per os* nakon 8 nedelja praćenja u pogledu:
  - učestalosti recidiva bolesti
  - vremena proteklog od prestanka primene leka do pojave recidiva
  
4. Uporediti ishod teške i komplikovane CDI kod bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom starijih od 65 godina, bolesnika sa prvim recidivom CDI i bolesnika sa pridruženom antibiotskom terapijom

### III deo istraživanja

1. Prikazati demografske, kliničke i laboratorijske karakteristike bolesnika sa teškom i komplikovanom CDI refraktarnom na standardnu terapiju vankomicinom i metronidazolom.
2. Ispitati učestalost kliničkog izlečenja i pojave recidiva, kao i vreme od uvođenja teikoplanina u terapiju do prestanka proliva i ileusa kod bolesnika sa teškom i komplikovanom CDI lečenih teikoplaninom kod kojih prethodno nije došlo do izlečenja nakon terapije vankomicinom i metronidazolom.

## 3. BOLESNICI I METODE

### **3.1. Dizajn studije**

Istraživanje je sprovedeno kao prospektivna opservaciona kohortna studija u periodu od 1. avgusta 2013. do 31. jula 2015. godine u Klinici za infektivne i tropske bolesti Kliničkog centra Srbije.

Ciljnu grupu činili su svi bolesnici sa dokazanom CDI stacionarno lečeni u Odeljenju crevnih infekcija Klinike za infektivne i tropske bolesti Kliničkog centra Srbije. Za prvi i drugi deo istraživanja ciljnu grupu su činili bolesnici sa dokazanom CDI koji su imali tešku i komplikovanu formu bolesti, dok su za treći deo istraživanja ciljnu grupu činili bolesnici sa teškom ili komplikovanom formom CDI refraktarnom na primenu standardne terapije vankomicinom i metronidazolom.

Bolesnici su odabrani za istraživanje na osnovu definisanih kriterijuma za uključivanje i isključivanje iz istraživanja.

#### Kriterijumi za uključivanje u istraživanje:

- odrasli bolesnici;
- dokazana CDI (mikrobiološka i/ili endoskopska verifikacija);
- teška, komplikovana ili refraktarna forma bolesti;
- prva epizoda i prvi recidiv CDI.

#### Kriterijumi za isključivanje iz istraživanja:

- laka i umereno teška forma bolesti;
- drugi i svaki sledeći recidiv bolesti zbog drugačijeg protokola lečenja;
- prisustvo druge bolesti digestivnog trakta (maligne, inflamatorne bolesti creva i različitih vrsta enteropatija) zbog toga što ove bolesti same mogu dovesti do proliva;
- bolesnici koji su pri prijemu bili potencijalno životno ugroženi, jer su svi bolesnici sa takvom težinom bolesti lečeni isključivo vankomicinom i metronidazolom, s obzirom na zastarele i oskudne podatke o primeni teikoplanina u lečenju CDI prisutne u literaturi;

- anamnestički podatak o prethodnoj alergiji na vankomicin i/ili teikoplanin.

Kriterijumi za naknadno povlačenje iz istraživanja:

- naknadno otkrivena pridružena bolest creva;
- naknadna pojava alergijske reakcije na vankomicin ili teikoplanin;
- gubitak u periodu praćenja;
- hospitalizacija u drugoj ustanovi u toku perioda praćenja zbog mogućnosti da je ponovna pojava proliva posledica reinfekcije, a ne relapsa.

### **3.2. Odredjivanje eksperimentalne i kontrolne grupe i potrebne veličine uzoraka**

Za prvi i drugi navedeni deo istraživanja eksperimentalnu grupu činili su bolesnici sa teškom i komplikovanom formom CDI lečeni monoterapijom teikoplaninom *per os* u slučaju teške nekomplikovane, odnosno kombinovanom terapijom teikoplaninom *per os* i metronidazolom intravenski (*i.v.*) u slučaju komplikovane forme bolesti, dok su kontrolnu grupu činili bolesnici lečeni vankomicinom *per os* odnosno vankomicinom *per os* u kombinaciji sa intravenski primenjenim metronidazolom u slučaju teške odnosno komplikovane forme CDI. Na osnovu očekivane učestalosti recidiva kod bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom, procenjeno je da je u eksperimentalnoj i kontrolnoj grupi potrebno da bude najmanje po 60 bolesnika (sa snagom studije od 80%; pri  $\alpha$  0,05, koristeći program G Power).

Za treći cilj istraživanja eksperimentalnu grupu su činili bolesnici sa teškom i komplikovanom CDI kod kojih nakon 14 dana standardne terapije nije došlo do kliničkog izlečenja. Za detekciju povoljnog odgovora od najmanje 70% na peroralnu primenu teikoplanina kod bolesnika kod kojih nije postignuto izlečenje primenom vankomicina i metronidazola, pri nivou statističke značajnosti od 0,05 i statističkoj snazi od 80%, utvrđeno je da je potrebna minimalna veličina uzorka od 9 ispitanika.

### **3.3. Metode za dijagnostiku *C. difficile* infekcije**

Dijagnoza *C. difficile* infekcije postavljena je u slučaju postojanja proliva i detekcije toksina A/B *C. difficile* u stolici (RIDA®QUICK *Clostridium difficile* Toxin A/B, R-Biopharm AG, An der neuen Bergstrase 17, 64297, Darmstadt, Nemačka), pozitivnom *C. difficile* kulturom stolice (podloga ChromID ® *C. difficile*, bioMérieux, 69280, Marcy-l'Étoile, Francuska) ili endoskopskom potvrdom postojanja pseudomembranoznog kolitisa.

Uzorci stolice svih bolesnika kod kojih je postojala klinička sumnja na CDI i koji su imali faktore rizika za ovu infekciju analizirani su pomoću brzog EIA testa za detekciju toksina A i B i kultivisani na odgovarajućoj podlozi. Test za detekciju toksina A i B bio je sproveden unutar 24h od prijema u bolnicu. Za sve bolesnike sa pozitivnim toksinima A i B *C. difficile* u stolici inicijalno se smatralo da imaju CDI i bili su uključeni u istraživanje u slučaju da su zadovoljeni predviđeni kriterijumi. Po pristizanju rezultata kulture stolice, za bolesnike sa pozitivnim toksinima *C. difficile* u stolici i pozitivnom *C. difficile* kulturom stolice smatralo se da imaju potvrđenu CDI.

Bolesnicima sa negativnom kulturom stolice na *C. difficile*, a pozitivnim nalazom toksina A/B u stolici učinjena je fleksibilna rektosigmoidoskopija ili kolonoskopija u cilju isključivanja bolesnika sa lažno pozitivnim testom za detekciju toksina *C. difficile*. Kod svih ovih bolesnika fleksibilna rektosigmoidoskopija je pokazala prisustvo tipičnih pseudomembrana na sluznici kolona. Nije postojao ni jedan slučaj kod koga su toksini A i B bili pozitivni, a kultura na *C. difficile* negativna, a da endoskopski nije potvrđen pseudomembranozni kolitis.

U slučaju negativnog testa za detekciju toksina A i B *C. difficile*, urađena je i kultura stolice, međutim, s obzirom na to da se rezultati kultivacije stolice dobijaju nakon nekoliko dana, svim bolesnicima kod kojih je postojala jasna klinička sumnja i faktori rizika za CDI takođe je učinjena fleksibilna rektosigmoidoskopija i oni bolesnici sa nalazom pseudomembranoznog kolitisa, a bez pridruženih bolesti creva, su uključeni u istraživanje.

Za 57 uzoraka stolice učinjena je ribotipizacija PCR metodom na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Mariboru, Slovenija.

### **3.4. Definicija teške, komplikovane i refraktorne forme *C. difficile* infekcije**

Kriterijumi za tešku i komplikovanu formu bolesti ustanovljeni su na osnovu modifikovanih ESCMID i IDSA/SHEA preporuka.

Teška *C. difficile* infekcije podrazumevala je:

- Postojanje pseudomembranoznog kolitisa i/ili
- postojanje najmanje dve od sledećih karakteristika:
  - (a) temperatura preko 38°C;
  - (b) leukocitoza >15000/mm<sup>3</sup>;
  - (c) porast kreatinina za više od 50% od bazalne vrednosti;
  - (d) hipoalbuminemija < 30 g/l.

Komplikovana forma *C. difficile* infekcije podrazumevala je postojanje bar jedne od sledećih karakteristika:

- ileusa ili toksičnog megakolona;
- hipotenzije koja zahteva primenu vazopresora;
- popuštanje organa (bubrežna slabost, respiratorna insuficijencija).

Pod refraktarnom CDI podrazumevali su se oni slučajevi kod kojih je proliv perzistirao uprkos primeni 14 dana standardne terapije vankomicinom ili vankomicinom i metronidazolom u zavisnosti od težine bolesti.

### **3.5. Način dodeljivanja terapijskog režima, doziranje i trajanje terapije**

Po prijemu bolesnicima sa teškom nekomplikovanom formom CDI ordiniran je vankomicin *per os* u dozi od 125mg na 6h ili teikoplanin *per os* u dozi od 100mg na 12h.

Bolesnici sa komplikovanim oblikom CDI dobijali su metronidazol primenjen intravenski u dozi 500mg na 8h u kombinaciji sa vankomicinom u dozi od 500mg na 6h *per os* ili teikoplaninom u dozi od 200mg na 12h *per os*. Predviđeno trajanje terapije je bilo 14 dana.

Na početku istraživanja vankomicin i teikoplanin su naizmenično davani bolesnicima kod kojih su ispunjeni kriterijumi za uključenje u istraživanje (prvi bolesnik je dobio teikoplanin, drugi je dobio vankomicin, itd). Odluka da se lekovi daju naizmenično doneta je u cilju izbegavanja pristrasnosti u izboru terapijskog režima. Međutim, tokom istraživanja postojali su periodi kada jedan ili drugi lek nisu bili dostupni u Klinici za infektivne i tropske bolesti Kliničkog centra Srbije. Tokom takvih perioda svi novi bolesnici koji su uključivani u istraživanje dobijali su jedini dostupan glikopeptidni antibiotik u tom trenutku (vankomicin ili teikoplanin).

Kod bolesnika sa ileusom i/ili toksičnim megakolonom kao dodatak kombinovanoj terapiji ordinirani su i vankomicin ili teikoplanin putem klizme. Standardna doza leka datog u vidu klizme bila je 500mg vankomicina na 6h, odnosno 200mg teikoplanina na 12h rastvorenih u 150ml fiziološkog rastvora.

U trećem delu istraživanja bolesnicima koji su prvobitno lečeni vankomicinom kao monoterapijom ili u kombinaciji sa metronidazolom u zavisnosti od kliničke prezentacije, a nisu postigli izlečenje nakon 14 dana terapije, ordiniran je teikoplanin *per os* u adekvatnoj dozi, a u skladu sa težinom bolesti, tokom 14 dana.

### **3.6. Način pripreme i bezbednost leka**

Teikoplanin je žućkast, amorfan prašak rastvorljiv u vodi, praktično nerastvorljiv u alkoholu i slabo rastvorljiv u dimetilformalidu (134). Prašak je *ex tempore* rastvaran u 3ml vode za injekcije postepenim, sporim dodavanjem rastvarača, tj. vode za injekcije u bočicu sa praškom, a potom nežnim okretanjem bočice dok se prašak potpuno ne rastvori. Ovako pripremljen rastvor je bistar i žućkast i čuvan je na temperaturi od 2-8°C maksimalno 24h.



Ukoliko se čuva pod navedenim uslovima, ovaj rastvor zadržava hemijsku i fizičku stabilnost tokom 24h prema preporukama EMA („*European Medicines Agency*“) (134).

Preparat vankomicina koji je korišćen je prašak za intravensku infuziju, injekciju ili peroralni rastvor, s obzirom na to da u vreme istraživanja kapsule vankomicina za *per os* primenu nisu bile dostupne u Klinici za infektivne i tropske bolesti. Prašak je *ex tempore* rastvaran u 10ml vode za injekcije. Nakon rastvaranja rastvor je čuvan na temperaturi od 2-8°C maksimalno tokom 24h. Prema preporukama, ovako pripremljen i čuvan rastvor zadržava fizičku i hemijsku stabilnost (127).

Teikoplanin primenjen *per os* ne resorbuje se iz digestivnog trakta (134). Ispitivanjem na zdravim dobrovoljcima nakon primenjene jednokratne doze od 250mg i 500mg *per os* teikoplanin nije nadjen u krvi i urinu, jer se eliminiše fecesom u nepromenjenom obliku (134). S obzirom na to da nema resorpcije leka nema ni njegovog sistemskog dejstva te stoga ni opasnosti od poznatih sistemskih neželjenih efekata i toksičnosti (134).

### **3.7. Prikupljanje podataka**

Za sve bolesnike prikupljeni su podaci o demografskim karakteristikama (pol, starost), pridruženim bolestima, inicijalnim simptomima i znacima i težini kliničke slike, inicijalnim radiografskim, mikrobiološkim i biohemijskim analizama, kao i podaci o komplikacijama nastalim tokom hospitalizacije (ileus, toksični megakolon, druge bolničke infekcije, popuštanje organa, duboka venska tromboza) i primeni pridružene antibiotske terapije. Takođe je zabeleženo vreme do prestanka proliva nakon uvođenja vankomicina/teikoplanina, ishod na kraju hospitalizacije (izlečenje, neuspešno lečenje ili smrtni ishod) i pojava recidiva u okviru 8 nedelja po završetku terapije. Pod izlečenjem se smatrao prestanak tegoba u trajanju od najmanje 48h nakon 14 dana terapije, dok se pod neuspešnim lečenjem podrazumevalo održavanje proliva sa/bez drugih simptoma i znakova bolesti nakon 14 dana odgovarajuće terapije za CDI.

### **3.8. Praćenje bolesnika**

Po završenoj terapiji svi bolesnici su praćeni tokom 8 nedelja u cilju otkrivanja recidiva bolesti. Praćenje je sprovedeno pozivanjem bolesnika na kontrolni pregled nakon

dve, četiri i 8 nedelja od završetka terapije, uz savet za obaveznu vanrednu kontrolu u slučaju ranije ponovne pojave dijarealnog sindroma. Pod recidivom se podrazumevala ponovna pojava više od dve neformirane stolice za 24h u trajanju od najmanje dva dana, do 8 nedelja nakon postignutog izlečenja i završene terapije, uz pozitivan toksin A/B *C. difficile* u stolici ili pozitivnu kulturu stolice za *C. difficile*. Period praćenja u trajanju od 8 nedelja je određen na osnovu preporuka aktuelnih vodiča za CDI prema kojima se ponovna pojava proliva unutar navedenog vremenskog perioda smatra recidivom tj. relapsom, a nakon toga reinfekcijom (77,110).

### **3.9. Statistička obrada podataka**

Statistička obrada podataka urađena je korišćenjem elektronske baze podataka organizovane u statističkom softverskom paketu SPSS („*Statistical Package for the Social Sciences*“) (verzija 21.0). U analizi prikupljenih podataka korišćene su metode deskriptivne (mere centralne tendencije i varijabiliteta) i analitičke statistike. Za prikaz verovatnoće prestanka dijareje i ileusa, verovatnoće smrtnog ishoda ili razvoja recidiva bolesti u zavisnosti od terapijskog režima primenjena je *Kaplan-Meier*-ova analiza preživljavanja, a poređenje verovatnoće je učinjeno *log rank* testom. Za procenu značajnosti razlike u ishodu lečenja ili uticaja različitih faktora rizika korišćene su metode univarijantne analize, a radi eliminacije mogućeg uticaja pridruženih faktora na određeni ishod korišćena je multivarijantna logistička regresija. Od metoda univarijantne analize korišćeni su odgovarajući testovi za parametrijske (*Student*-ov t-test) i neparametrijske varijable ( $\chi^2$ -test, *Fisher*-ov test tačne verovatnoće i *Mann-Whitney U* test). Određivan je odnos šansi OR („*odds ratio*“) sa 95% intervalom poverenja (95% CI). Nivo značajnosti je bio 0,05.

### **3.10. Etičnost istraživanja**

Sprovođenje istraživanja je odobreno od strane Etičkog komiteta Kliničkog Centra Srbije (br.29/V-16). Svi ispitanici (ili članovi njihove porodice u slučaju da bolesnik nije bio u stanju) su potpisali informisani pristanak. Istraživanje je sprovedeno u skladu sa Helsinškom deklaracijom i njenim kasnijim revizijama (217).

## 4. REZULTATI

U periodu od 1. avgusta 2013. do 31. jula 2015. godine u Odeljenju crevnih infekcija Klinike za infektivne i tropske bolesti Kliničkog centra Srbije lečeno je ukupno 585 bolesnika sa *C. difficile* infekcijom. Od ovog broja, njih 96 je imalo laku i umereno tešku formu bolesti, dok je 58 bolesnika bilo neposredno životno ugroženo pri prijemu. Od preostalih bolesnika, 48 je bilo hospitalizovano zbog drugog ili višestrukog recidiva CDI, a 64 bolesnika je imalo neku drugu pridruženu bolest creva (karcinom kolona, limfom tankog creva ili inflamatornu bolest creva). Sve navedene grupe bolesnika bile su isključene iz istraživanja u skladu sa prethodno definisanim kriterijumima. Zbog nepotpunog perioda praćenja još 32 bolesnika su isključena iz analize, tako da je konačan broj analiziranih bolesnika bio 287.

Od ukupnog broja analiziranih bolesnika, 107 je lečeno peroralnom primenom teikoplanina, dok je njih 180 lečeno vankomicinom *per os*.

### 4.1. PRVI DEO ISTRAŽIVANJA

#### 4.1.1. Demografske karakteristike bolesnika

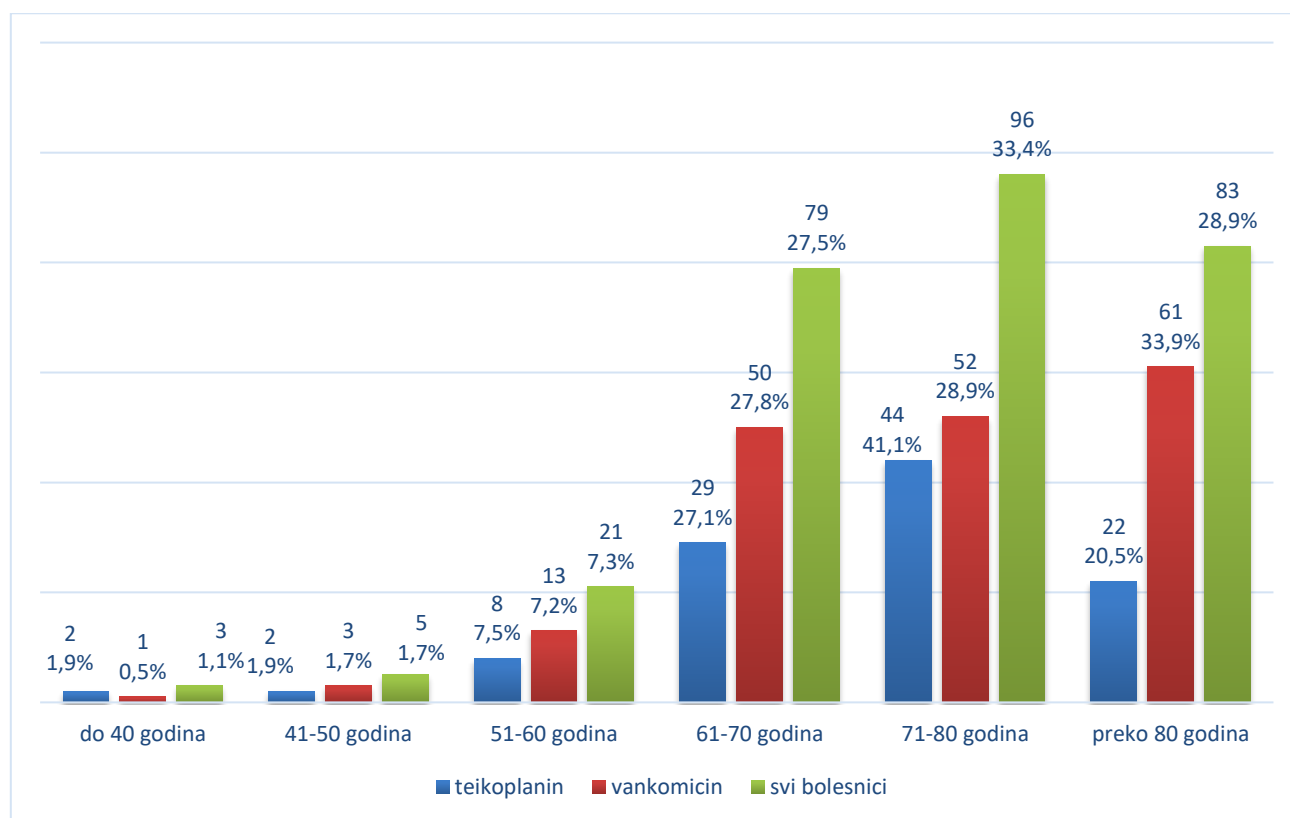
Prosečna starost svih analiziranih bolesnika iznosila je  $73,5 \pm 10,6$  godina. Sagledavajući lečene bolesnike po starosnim kategorijama, dominirali su stariji od 65 godina koji su činili 78% ukupno analiziranih. Nije bilo statistički značajne razlike u prosečnim godinama starosti niti u procentu starijih od 65 godina između bolesnika lečenih vankomicinom i teikoplaninom. (Tabela 3)

Značajan broj bolesnika bio je stariji čak i od 80 godina (28,9%). (Grafikon 1). Najstariji bolesnik imao je čak 96 godina, a najmlađi 29 godina.

**Tabela 3. Demografske karakteristike bolesnika sa CDI lečenih teikoplaninom i vankomicinom (n=287)**

Karakteristika	Svi bolesnici n=287	Teikoplanin n=107	Vankomicin n=180	p	OR (95% CI)
Muški pol	135 (47,0%)	52 (48,6%)	83 (46,1%)	0,715	0,91 (0,56-1,46)
Prosečna starost±SD (u godinama)	73,5±10,6	72,3±10,7	74,4±10,3	0,100	/
Starost ≥65 godina	224 (78,0%)	80 (74,5%)	144 (80,0%)	0,300	1,35 (0,76-2,38)

OR-odds ratio-odnos šansi; CI-confidence interval-interval poverenja; SD-standardna devijacija.



**Grafikon 1. Starosna distribucija bolesnika sa CDI lečenih teikoplaninom i vankomicinom (n=287)**

#### 4.1.2. Pridružene bolesti kod analiziranih bolesnika

Najčešće pridružene bolesti bile su različite kardiovaskularne bolesti, među kojima su hipertenzija i koronarna bolest bile najzastupljenije. Bolesnika koji su duži vremenski period bili nepokretni bilo je 120 (41,8%). Nije bilo statistički značajne razlike između bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom u pogledu pridruženih bolesti, izuzev u pogledu hronične opstruktivne bolesti pluća i kardiomiopatije koje su bile češće kod onih lečenih vankomicinom ( $p=0,036$  i  $p=0,020$ , respektivno). (Tabela 4)

**Tabela 4. Pridružene bolesti bolesnika sa CDI lečenih teikoplaninom i vankomicinom (n=287)**

Pridružena bolest	Svi bolesnici	Teikoplanin n=107	Vankomicin n=180	p	OR (95% CI)
Kardiovaskularne bolesti	237 (82,6%)	82 (76,6%)	155 (86,1%)	0,053	1,89 (1,02-3,50)
Hipertenzija	184 (64,1%)	64 (59,8%)	120 (66,7%)	0,254	1,34 (0,82-2,20)
Atrijalna fibrilacija	74 (25,8%)	23 (21,5%)	51 (28,3%)	0,212	1,44 (0,82-2,54)
Koronarna bolest	87 (30,3%)	30 (28,0%)	57 (31,7%)	0,596	1,19 (0,70-2,01)
Kardiomiopatija	80 (27,9%)	21 (19,6%)	59 (32,8%)	<b>0,020</b>	<b>1,99 (1,13-3,53)</b>
Šećerna bolest	63 (22,0%)	21 (19,6%)	42 (23,3%)	0,446	1,25 (0,69-2,25)
Prethodni moždani udar	62 (21,6%)	22 (20,6%)	40 (22,2%)	0,769	1,10 (0,61-1,98)
Maligna bolest	44 (15,3%)	18 (16,8%)	26 (14,4%)	0,614	0,84 (0,43-1,61)
Hronični bronhitis	41 (14,3%)	9 (8,4%)	32 (17,8%)	<b>0,036</b>	<b>2,35 (1,08-5,15)</b>
Nepokretnost	120 (41,8%)	52 (48,6%)	68 (37,8%)	0,083	0,64 (0,40-1,04)

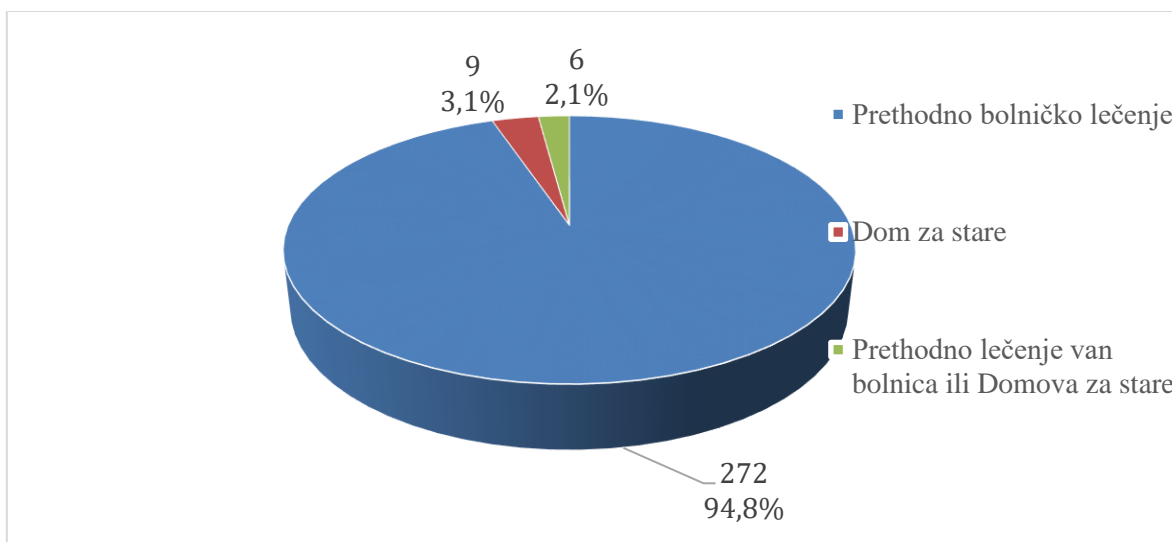
Najčešći razlog prethodne hospitalizacije ili primene antibiotika bile su različite infekcije i to kod 67 (23,3%) bolesnika, pri čemu je najčešća bila pneumonija, prisutna kod 58 (20,2%) bolesnika, a slede ortopedsko-hirurške bolesti kod 38 (13,2%) i moždani udar kod 34 (11,8%) bolesnika. Nije bilo statistički značajne razlike u zastupljenosti različitih bolesti/intervencija koje su neposredno prethodile CDI između dve grupe bolesnika, osim što su bolesnici lečeni teikoplaninom češće imali prethodnu ortopedsko-hiruršku bolest ili intervenciju ( $p=0,047$ ). (Tabela 5)

**Tabela 5. Bolest/intervencija čije je lečenje/sprovođenje neposredno prethodilo razvoju CDI kod bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom (n=287)**

<i>Bolest/intervencija</i>	<i>Svi bolesnici</i>	<i>Teikoplanin</i>	<i>Vankomicin</i>	<i>p</i>	<i>OR (95%CI)</i>
<i>Infekcija</i>	67 (23,3%)	19 (17,8%)	48 (26,7%)	0,111	1,68 (0,92-3,06)
<i>Ortopedsko-hirurška bolest</i>	38 (13,2%)	20 (18,7%)	18 (10,0%)	0,047	0,48 (0,25-0,96)
<i>Moždani udar</i>	34 (11,8%)	12 (11,2%)	22 (12,2%)	0,852	0,90 (0,43-1,91)
<i>Onkološko lečenje</i>	22 (7,7%)	14 (13,1%)	6 (3,3%)	1,000	0,96 (0,39-2,36)
<i>Digestivna hirurgija</i>	20 (7,0%)	14 (13,1%)	6 (3,3%)	0,002	4,36 (1,62-11,73)
<i>Vaskularna hirurgija</i>	16 (5,6%)	4 (3,7%)	12 (6,7%)	0,426	0,54 (0,17-1,73)
<i>Kardiohirurgija</i>	15 (5,2%)	7 (6,5%)	8 (4,4%)	0,584	1,51 (0,53-4,27)
<i>Urološka intervencija</i>	12 (4,2%)	6 (5,6%)	6 (3,3%)	0,373	1,72 (0,54-5,48)
<i>Infarkt miokarda</i>	11 (3,8%)	5 (4,7%)	6 (3,3%)	0,751	1,42 (0,42-4,78)
<i>Pogoršanje KVS bolesti</i>	11 (3,8%)	2 (1,9%)	9 (5,9%)	0,220	0,36 (0,08-1,70)
<i>Implantacija pejsmejкера</i>	7 (2,4%)	2 (1,9%)	5 (2,8%)	0,716	0,67 (0,13-3,49)
<i>Neurohirurška intervencija</i>	6 (2,1%)	1 (0,9%)	5 (2,8%)	0,416	0,33 (0,04-2,86)
<i>Pogoršanje hroničnog bronhitisa</i>	3 (1,0%)	0 (0,0%)	3 (1,7%)	0,296	/
<i>Početak hemodijalize</i>	2 (0,7%)	1 (0,9%)	1 (0,6%)	1,000	1,69 (0,10-27,28)
<i>Porodaj</i>	1 (0,3%)	1 (0,9%)	0 (0,0%)	0,378	/
<i>GBS</i>	1 (0,3%)	1 (0,9%)	0 (0,0%)	0,378	/
<i>Drugo</i>	21 (7,3%)	4 (3,7%)	17 (9,4%)	0,099	0,36 (0,12-1,13)

KVS-kardiovaskularni; GBS-„Guillian Barre Syndrome“.

Među analiziranim bolesnicima njih 272 (94,8%) bilo je prethodno hospitalizovano u nekoj od mnogobrojnih zdravstvenih ustanova, a kod 15 (5,2%) bolesnika radilo se o vanbolničkoj CDI, od čega je njih 9 (3,1%) lečeno u Domu za stare. (Grafikon 2)



**Grafikon 2. Mesto lečenja bolesnika neposredno pre razvoja CDI (n=287)**

Pacijenti sa bolnički stečenom CDI prethodno su bili hospitalizovani u različitim zdravstvenim centrima, uključujući Klinički centar Srbije, kliničko-bolničke centre, opšte bolnice u Srbiji, kao i ustanove za rehabilitaciju. Najveći broj analiziranih bolesnika, njih 34 (11,8%), prethodno je lečeno u Specijalnoj bolnici za cerebrovaskularne bolesti Sveti Sava, sa kasnijim prevodom u Institut za rehabilitaciju u Mladenovcu. (Tabela 6)

**Tabela 6. Ustanova u kojoj su bolesnici bili hospitalizovani neposredno pre razvoja CDI**

<i>Mesto prethodnog stacionarnog bolničkog lečenja- broj bolesnika (%)</i>			
Bolnica Sveti Sava/Rehabilitacija Mladenovac	34 (11,8%)	Vojno-medicinska akademija	7 (2,4%)
Klinika za interne bolesti KBC Zvezdara	33 (11,5%)	Klinika za pulmologiju KCS	22 (7,7%)
Klinika za hirurgiju KBC Zvezdara	7 (2,4%)	Klinika za kardiologiju KCS	15 (5,2%)
Klinika za interne bolesti KBC Zemun	7 (2,4%)	Klinika za kardiohirurgiju KCS	13 (4,5%)
Klinika za hirurgiju KBC Zemun	8 (2,8%)	Klinika za ortopediju KCS	11 (3,8%)
KBC Bežanijska kosa	10 (3,5%)	Klinika za urologiju KCS	15 (5,2%)
Klinika za rehabilitaciju Dr Miroslav Zotović	3 (1,0%)	KOHB Banjica	13 (4,5%)
KBC Dr Dragiša Mišović	4 (1,4%)	IKVB Dedinje	5 (1,7%)
Klinika za vaskularnu hirurgiju KCS	20 (7,0%)	Opšte bolnice iz unutrašnjosti	8 (2,8%)
Klinika za digestivnu hirurgiju KCS	20 (7,0%)	Drugo	32 (11,1%)

KBC- Kliničko-bolnički centar; KOHB-Klinika za ortopedsko-hirurške bolesti; IKVB-Institut za kardiovaskularne bolesti

### 4.1.3. Kliničke karakteristike analiziranih bolesnika

Svi bolesnici uključeni u istraživanje imali su proliv. Čak 256 (89,2%) bolesnika je imalo sluzave stolice, a preko 10 stolica dnevno imala su 22 (7,7%) bolesnika. Povišena temperatura od bar 38°C zabeležena je kod 139 (48,4%) bolesnika.

Nije bilo statistički značajne razlike u simptomima CDI koji su bili prisutni kod bolesnika lečenih teikoplaninom i onih lečenih vankomicinom. (Tabela 7)

**Tabela 7. Simptomi i znaci prisutni kod bolesnika sa CDI lečenih teikoplaninom i vankomicinom**

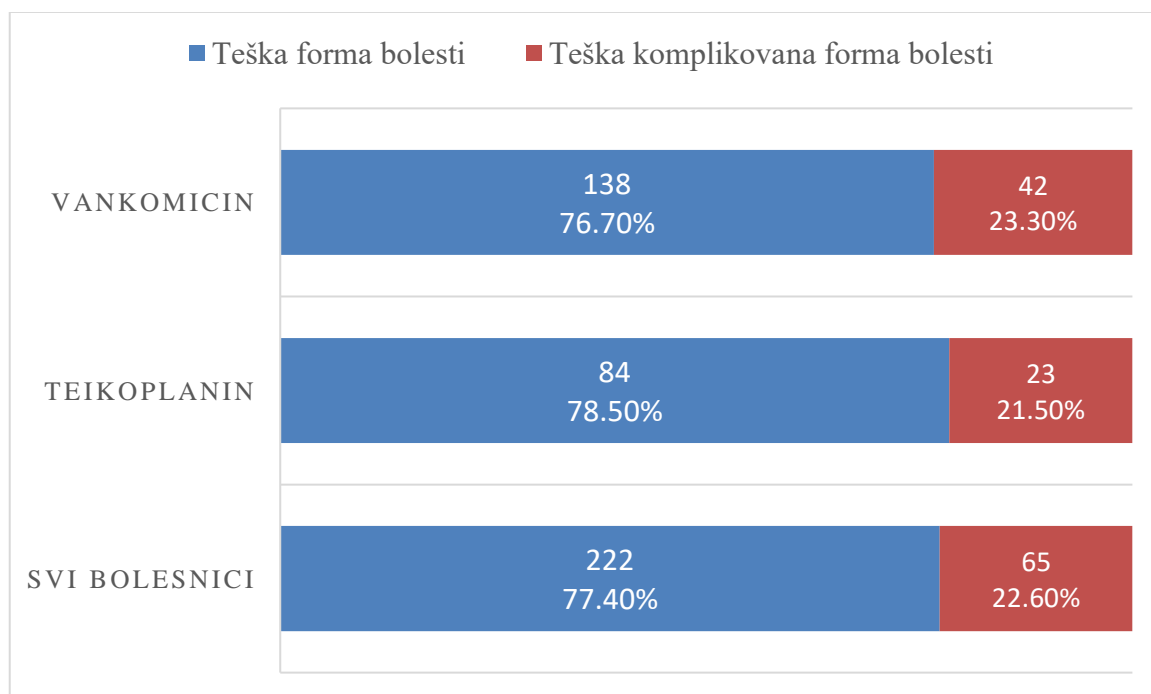
<i>Simptomi i znaci</i>	<i>Svi bolesnici n=287</i>	<i>Teikoplanin n=107</i>	<i>Vankomicin n=180</i>	<i>p</i>	<i>OR (95% CI)</i>
<i>Proliv</i>	287 (100%)	107 (100%)	180 (100%)	1,000	/
<i>≤ 5 stolica/dan</i>	102 (35,5%)	37 (34,6%)	65 (36,1%)		
<i>6-10 stolica/dan</i>	163 (56,8%)	63 (58,9%)	100 (55,6%)	0,794	/
<i>&gt;10 stolica/dan</i>	22 (7,7%)	7 (6,5%)	15 (8,3%)		
<i>Sluz u stolicama</i>	256 (89,2%)	100 (93,5%)	156 (86,7%)	0,079	2,19 (0,91-5,92)
<i>Krv u stolicama</i>	3 (1,0%)	2 (1,9%)	1 (0,5%)	0,557	0,29 (0,03-3,27)
<i>Temperatura ≥38°</i>	139 (48,4%)	51 (47,7%)	88 (48,9%)	0,903	1,05 (0,65-1,70)
<i>C</i>					
<i>Bolovi u trbuhu</i>	235 (81,9%)	87 (81,3%)	148 (82,2%)	0,752	1,10 (0,59-2,05)
<i>Palpatorna bolna osetljivost trbuha</i>	223 (77,7%)	88 (82,2%)	135 (75,0%)	0,187	1,54 (0,85-2,81)
<i>Napet trbuh</i>	57 (19,9%)	21 (19,6%)	36 (20,0%)	1,000	0,98 (0,54-1,78)
<i>Povraćanje</i>	32 (11,1%)	13 (12,1%)	19 (10,6%)	0,701	1,17 (0,55-2,48)
<i>Ascites</i>	47 (16,4%)	20 (18,7%)	27 (15,0%)	0,415	0,77 (0,41-1,44)
<i>Pleuralni izliv</i>	70 (24,4%)	28 (26,1%)	42 (23,3%)	0,670	0,86 (0,49-1,49)
<i>Periferni edemi</i>	79 (27,5%)	28 (26,2%)	51 (28,3%)	0,785	1,11 (0,65-1,91)
<i>Izmenjeno mentalno stanje</i>	33 (11,5%)	12 (11,2%)	21 (11,7%)	1,000	0,95 (0,45-2,03)



Prosečna dužina trajanja proliva do prijema u bolnicu kod svih analiziranih bolesnika iznosila je  $11,0 \pm 8,1$  dana. Utvrđena je statistički značajna razlika u dužini trajanja proliva do prijema između bolesnika lečenih teikoplaninom i onih lečenih vankomicinom ( $13,7 \pm 9,2$  i  $9,5 \pm 6,9$  dana, respektivno,  $p < 0,001$ ).

Od ukupnog broja analiziranih bolesnika njih 222 (77,4%) je imalo tešku nekomplikovanu formu bolesti, a 65 (22,6%) je imalo komplikovanu formu CDI. (Grafikon 3)

Univarijantnom analizom nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike u distribuciji bolesnika prema težini bolesti između dve terapijske grupe [ $p = 0,772$ ; OR (95% CI) 1,11 (0,62-1,98)].



**Grafikon 3. Distribucija bolesnika sa CDI lečenih teikoplaninom i vankomicinom prema težini bolesti**

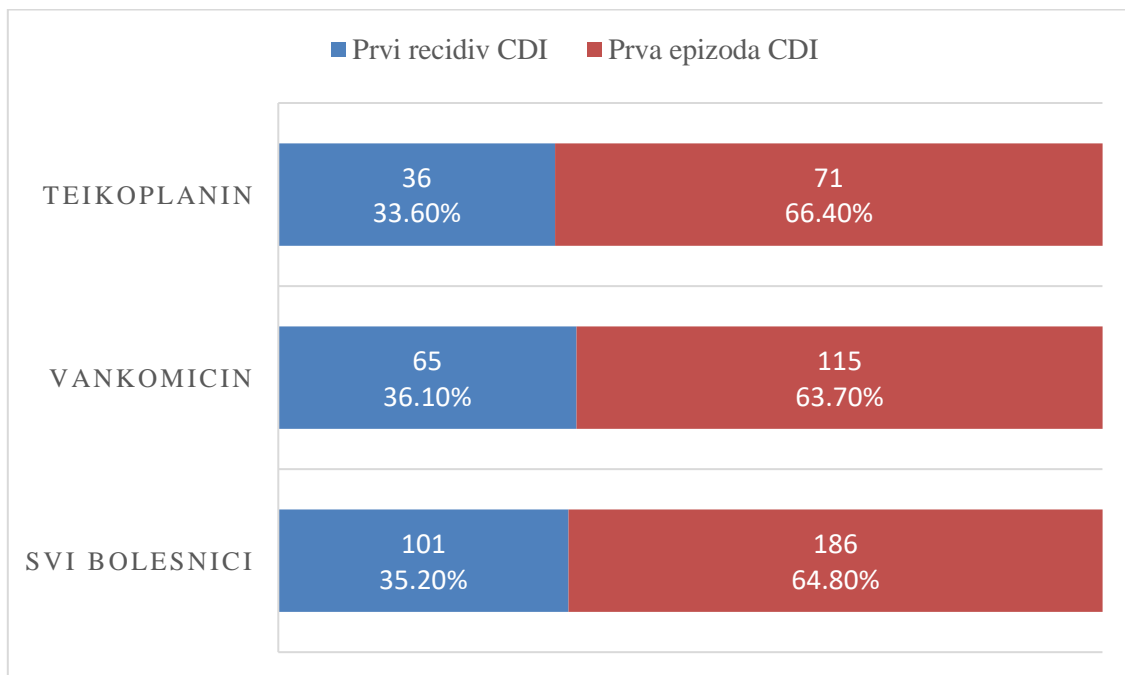
Među bolesnicima sa komplikovanom formom bolesti paralitički ileus je bio prisutan kod 52 (18,1%) bolesnika, pri čemu nije bilo statistički značajne razlike u učestalosti ileusa između bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom ( $p=0,752$ ). Toksični megakolon imalo je 8 (2,8%) bolesnika i to 4 (3,7%) bolesnika lečena teikoplaninom i 4 (2,2%) lečena vankomicinom. Ukupno 6 (2,1%) bolesnika tokom hospitalizacije je zahtevalo primenu vazopresora zbog hipotenzije. (Tabela 8)

**Tabela 8. Distribucija različitih karakteristika koje karakterišu tešku komplikovanu formu CDI kod bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom**

<i>Komplikacija</i>	<i>Svi bolesnici</i> <i>n=287</i>	<i>Teikoplanin</i> <i>n=107</i>	<i>Vankomicin</i> <i>n=180</i>	<i>p</i>	<i>OR (95% CI)</i>
<i>Ileus</i>	52 (18,1%)	18 (16,8%)	34 (18,9%)	0,752	1,15 (0,62-2,16)
<i>Toksični megakolon</i>	8 (2,8%)	4 (3,7%)	4 (2,2%)	0,476	0,59 (0,14-2,39)
<i>Hipotenzija sa potrebom za vazopresorima</i>	6 (2,1%)	3 (2,8%)	3 (1,7%)	0,674	0,59 (0,12-2,95)
<i>Respiratorna insuficijencija</i>	1 (0,3%)	1 (0,9%)	0 (0,0%)	0,372	/
<i>Poremećaj mentalnog statusa</i>	33 (11,5%)	12 (11,2%)	21 (11,7%)	1,000	0,95 (0,45-2,03)

Ni u jednoj od karakteristika komplikovane forme bolesti koje su prikazane na tabeli 8 nije bilo statistički značajne razlike između bolesnika iz dve terapijske grupe.

Od svih bolesnika koji su uključeni u istraživanje, kod 186 (64,8%) se radilo o prvoj epizodi CDI, a kod 101 (35,2%) bolesnika u pitanju je bilo lečenje prvog recidiva CDI. Udeo bolesnika sa prvim recidivom bolesti bio je nešto veći u grupi bolesnika lečenih vankomicinom, ali bez statističke značajnosti [ $p=0,703$ ; OR (95%CI) 1,12 (0,67-1,84)]. (Grafikon 4)



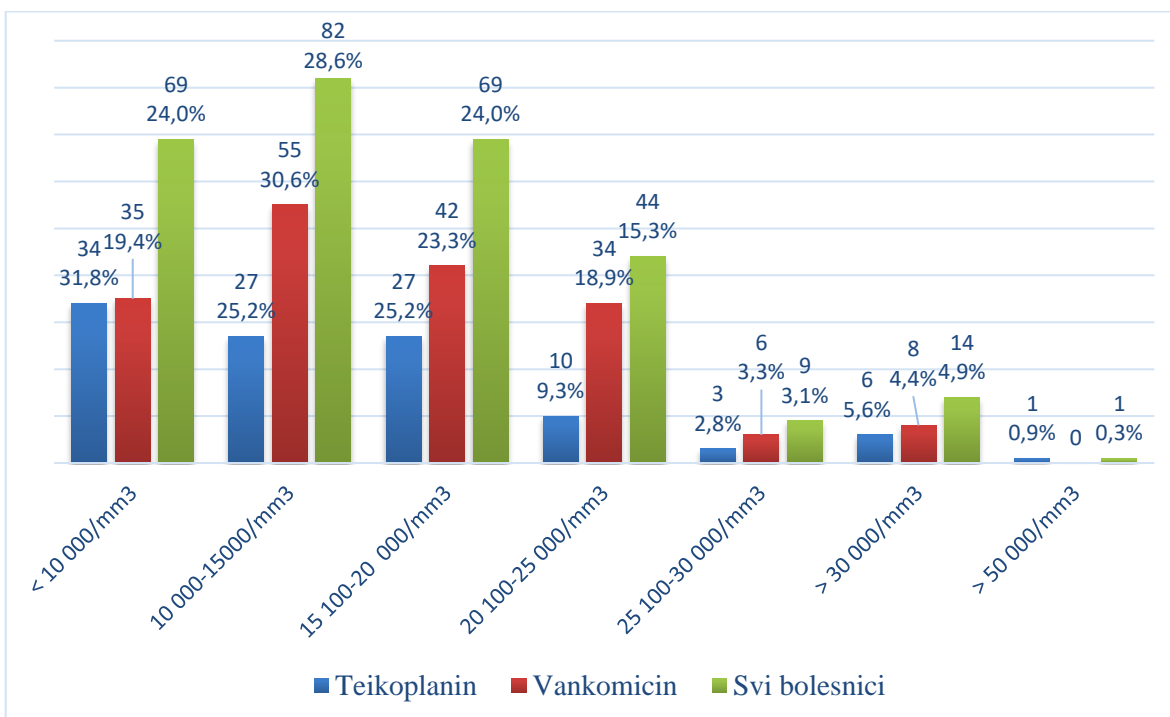
**Grafikon 4. Učestalost bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom sa prvom epizodom i prvim recidivom CDI (n=287)**

#### 4.1.4. Laboratorijske analize bolesnika

Prosečan broj leukocita pri prijemu iznosio je  $15800 \pm 8200/\text{mm}^3$ . Više od  $15000 \text{ Le}/\text{mm}^3$  imalo je 135 (47,0%) bolesnika, a preko  $30000 \text{ Le}/\text{mm}^3$  14 (4,9%) bolesnika. Jedan bolesnik lečen teikoplaninom imao je čak  $82000 \text{ Le}/\text{mm}^3$ .

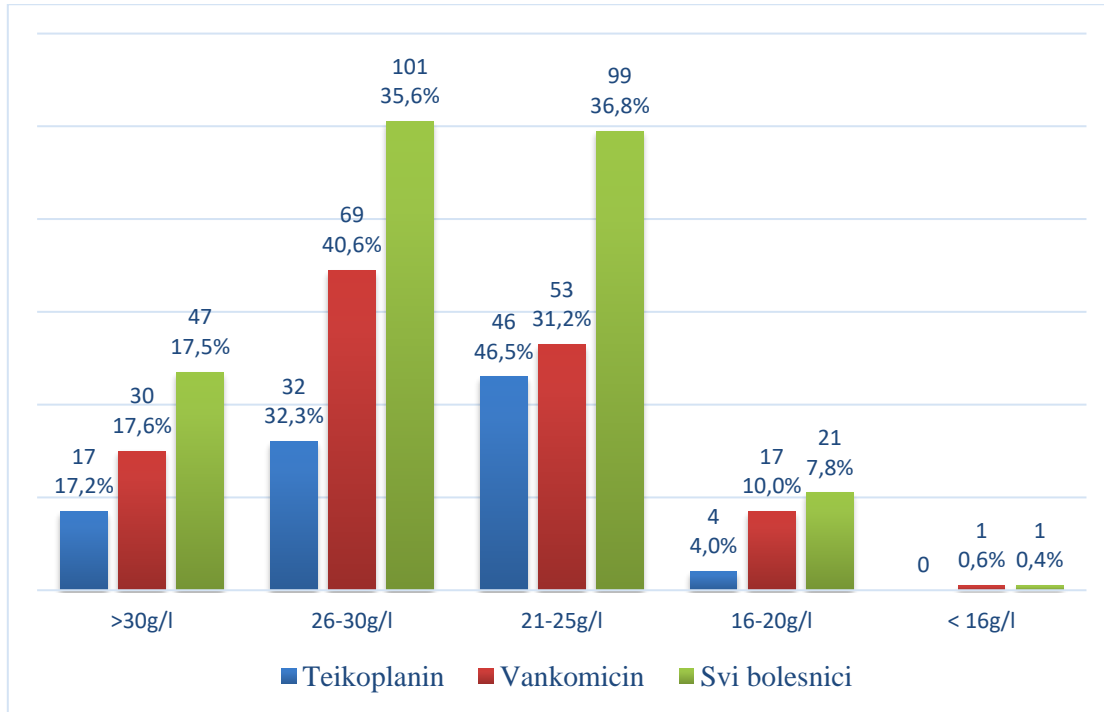
Bolesnici lečeni vankomicinom imali su nešto veći prosečan broj leukocita u odnosu na bolesnike lečene teikoplaninom, ali bez statistički značajne razlike ( $p=0,068$ ). Takođe, nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike ni u procentu bolesnika sa inicijalnim brojem leukocita preko  $15000/\text{mm}^3$  i preko  $30000/\text{mm}^3$  između bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom [46 (43,0%) vs 89 (49,4%),  $p=0,328$  i 6 (5,6%) vs 8 (4,4%),  $p=0,778$ , respektivno].

Distribucija bolesnika sa CDI lečenih teikoplaninom i vankomicinom u zavisnosti od inicijalnog broja leukocita je prikazana na grafikonu 5.



**Grafikon 5. Distribucija bolesnika sa CDI lečenih teikoplaninom i vankomicinom u zavisnosti od inicijalne vrednosti broja leukocita**

Značajan deo bolesnika, njih 82,5% imalo je hipoalbuminemiju  $\leq 30\text{g/l}$ , pri čemu je najveći broj, njih 200 (72,4%) imao vrednosti albumina između 21-30g/l. Ova vrednost albumina bila je najzastupljenija u obe terapijske grupe bolesnika. (Grafikon 6)



**Grafikon 6. Distribucija bolesnika sa CDI lečenih teikoplaninom i vankomicinom u zavisnosti od inicijalne vrednosti albumina u serumu**

Analizirani bolesnici imali su povišene prosečne vrednosti C reaktivnog proteina (CRP), d-dimera, kao i snižene vrednosti kalijuma i gvožđa u serumu. Zanimljivo je istaći da je najviša zabeležena vrednost d-dimera bila čak 34 mg/l, pri čemu su vrednosti bolesnika koji su imali dokazanu neku od tromboembolijskih komplikacija bile isključene iz analize. (Tabela 9)

Nije utvrđena statistički značajna razlika u inicijalnim vrednostima albumina, CRP-a, d-dimera, gvožđa, kalijuma u serumu niti udela bolesnika sa vrednostima kreatinina za 50% većim u odnosu na vrednosti pre bolesti između bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom ( $p=0,955$ ,  $p= 0,169$ ,  $p= 0,079$ ,  $p=0,891$ ,  $p=0,679$  i  $p= 0,082$ , respektivno). (Tabela 9)

**Tabela 9. Inicijalne vrednosti hematoloških i biohemijskih analiza kod bolesnika sa CDI lečenih teikoplaninom i vankomicinom**

Laboratorijska analiza*	Svi bolesnici			Teikoplanin	Vankomicin	p
	Srednja vrednost $\pm$ SD	Minimalna vrednost	Maksimalna vrednost			
Broj Le $\pm$ SD (broj ćelija/mm <sup>3</sup> )	15 800 $\pm$ 8 200	2 700	82 000	14 700 $\pm$ 7 800	16 500 $\pm$ 8 300	0,068
Albumini $\pm$ SD (g/l)	26,4 $\pm$ 4,7	15	41	26,4 $\pm$ 4,2	26,4 $\pm$ 4,9	0,955
CRP $\pm$ SD (mg/l)	114,7 $\pm$ 89,3	5,0	460,0	104,5 $\pm$ 84,1	120,6 $\pm$ 91,9	0,169
Kreatinin $\geq$ 1,5x u odnosu na vrednost pre CDI n (%)	41 (4,9%)	/	/	10 (9,4%)	31 (17,2%)	0,082
K $\pm$ SD (mmol/l)	3,8 $\pm$ 0,7	2,2	6,9	3,8 $\pm$ 0,7	3,8 $\pm$ 0,8	0,679
Na $\pm$ SD (mmol/l)	137 $\pm$ 4,9	115	161	137 $\pm$ 4,8	137 $\pm$ 5,1	0,947
Fe $\pm$ SD (mmol/l)	4,5 $\pm$ 4,2	0,3	38	4,6 $\pm$ 3,6	4,4 $\pm$ 4,5	0,819
d-dimer $\pm$ SD (mg/l) <sup>a</sup>	4,4 $\pm$ 4,2	0,2	34	3,7 $\pm$ 2,9	4,8 $\pm$ 4,7	0,079
PV $\pm$ SD (izraženo u %) <sup>b</sup>	69,5 $\pm$ 14,2	25,0	114,0	69,6 $\pm$ 16,5	69,5 $\pm$ 12,8	0,971
Fibrinogen $\pm$ SD (g/l)	4,2 $\pm$ 1,5	1,2	10,0	3,8 $\pm$ 1,2	4,3 $\pm$ 1,6	<b>0,013</b>

\*prikazane vrednosti označavaju srednju vrednost izuzev ako je drugačije naznačeno kao u slučaju sa vrednostima kreatinina; SD- standardna devijacija, PV- protrombinsko vreme

<sup>a</sup> Nisu uključene vrednosti d-dimera kod bolesnika sa tromboembolijskim komplikacijama

<sup>b</sup> Nisu uključene vrednosti PV-a kod bolesnika lečenih oralnim antikoagulansima

#### 4.1.5. Radiografski i ehosonografski nalazi kod bolesnika sa CDI

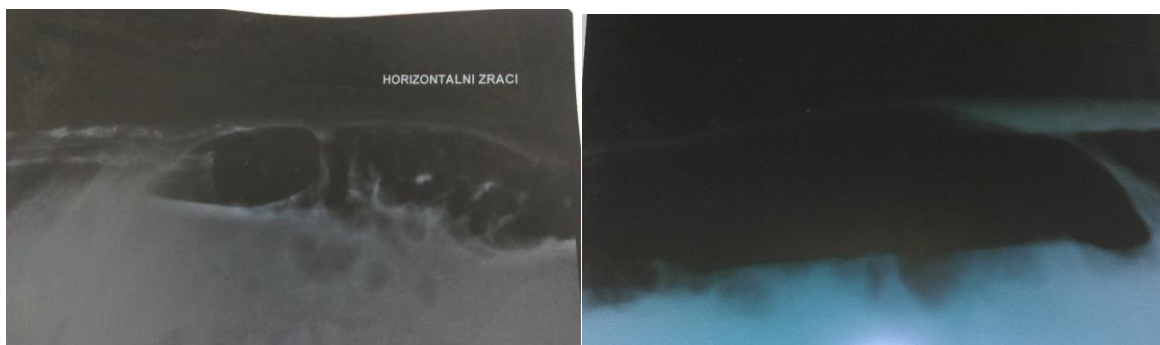
Nativni RTG abdomena urađen je pri prijemu u bolnicu kod 261 (90,9%) bolesnika. Kod bolesnika kod kojih nije urađen, nije ni postojala klinička sumnja na patološki nalaz na nativnom RTG abdomena. Od bolesnika kod kojih je urađen, kod njih 80 (27,5%) uočeni su hidroaerični nivoi i to kod 28 bolesnika (9,4%) bez postojanja distenzije creva, a kod 52 (18,1%) bolesnika sa crevnom distenzijom. Nije bilo statistički značajne razlike u distribuciji različitih nalaza nativnog RTG abdomena kod bolesnika lečenih vankomicinom i teikoplaninom ( $p=0,199$ ). (Tabela 10)

**Tabela 10. Radiografski nalaz nativnog RTG abdomena kod bolesnika sa CDI lečenih teikoplaninom i vankomicinom**

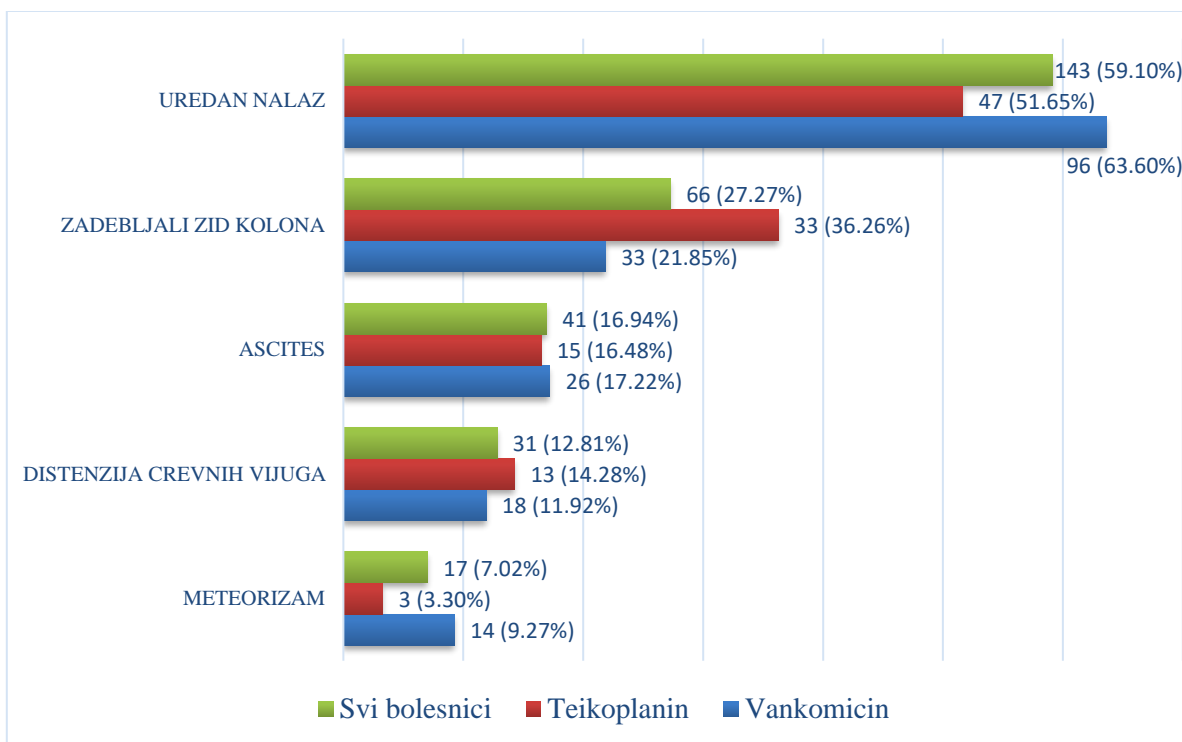
Nalaz nativnog RTG abdomena	Svi bolesnici <i>n</i> =287	Teikoplanin <i>n</i> =107	Vankomicin <i>n</i> =180	<i>p</i>
Nije radjen	26 (9,1%)	8 (7,5%)	18 (10,0%)	
Uredan nalaz	184 (64,1%)	69 (64,5%)	115 (63,9%)	
Aerokolija	5 (1,7%)	1 (0,9%)	4 (2,2%)	
HA nivoi bez distenzije creva	28 (9,4%)	12 (11,2%)	8 (4,4%)	0,199
HA nivoi sa distenzijom creva	52 (18,1%)	17 (15,9%)	35 (19,4%)	

HA- hidroaerični

Na slici 2 prikazani su neki od nalaza nativnog RTG abdomena analiziranih bolesnika.

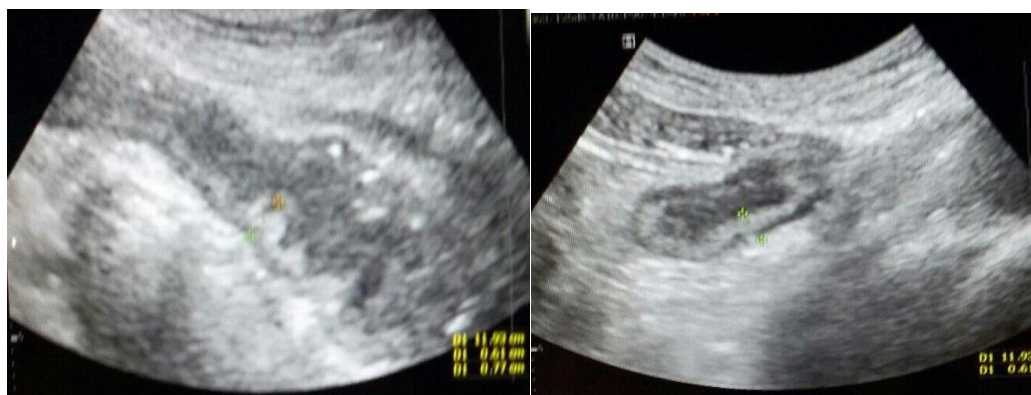


**Slika 2. Hidroaerični nivoi sa gasnom distenzijom crevnih vijuga**



**Grafikon 7. Nalazi ultrazvučnog pregleda trbuha kod bolesnika sa CDI lečenih teikoplaninom i vankomicinom**

Ultrazvučni pregled abdomena urađen je kod 242 (84,3%) bolesnika. Znake kolitisa u vidu zadebljalog zida kolona imala su 64 (26,4%) bolesnika, a slobodna tečnost u trbuhu, najčešće samo interintestinalno, viđena je na 41 (16,9%) ultrazvučnom pregledu abdomena. (Grafikon 7). Izgled zadebljalog zida kolona na ultrazvučnom nalazu jednog od bolesnika prikazan je na slici 3.



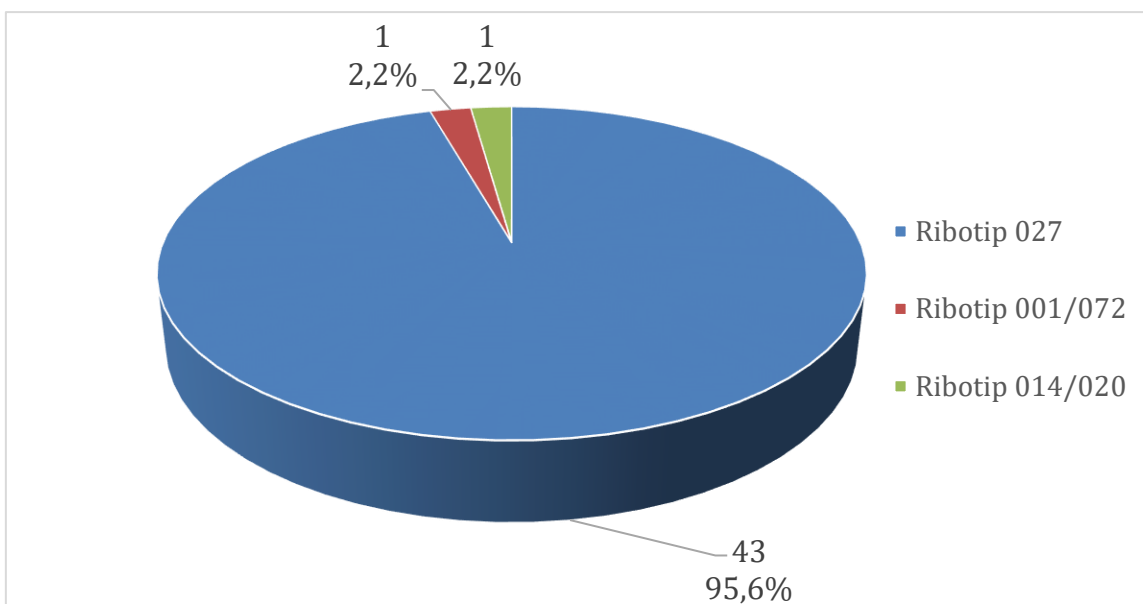
**Slika 3. Zadebljali zid kolona-kolitis**



#### 4.1.6. Rezultati dijagnostičkih metoda za dokazivanje CDI

Kod svih 287 bolesnika urađena je kultura stolice za *C. difficile*. Pozitivnu kulturu imalo je njih 196 (68,3%). Brzi test za detekciju toksina A i B *C.difficile* u stolici urađen je kod 232 bolesnika, a prisustvo toksina je potvrđeno kod 205 (88,4%) bolesnika.

Izolati *C. difficile* iz 57 uzoraka stolice poslani su na ribotipizaciju, pri čemu su rezultati dobijeni za 45 uzoraka. Rezultati ribotipizacije pokazali su ubedljivu predominaciju ribotipa 027 u populaciji analiziranih bolesnika. Naime, u 43/45 (95,6%) uzoraka dokazan je ribotip 027. (Grafikon 8)

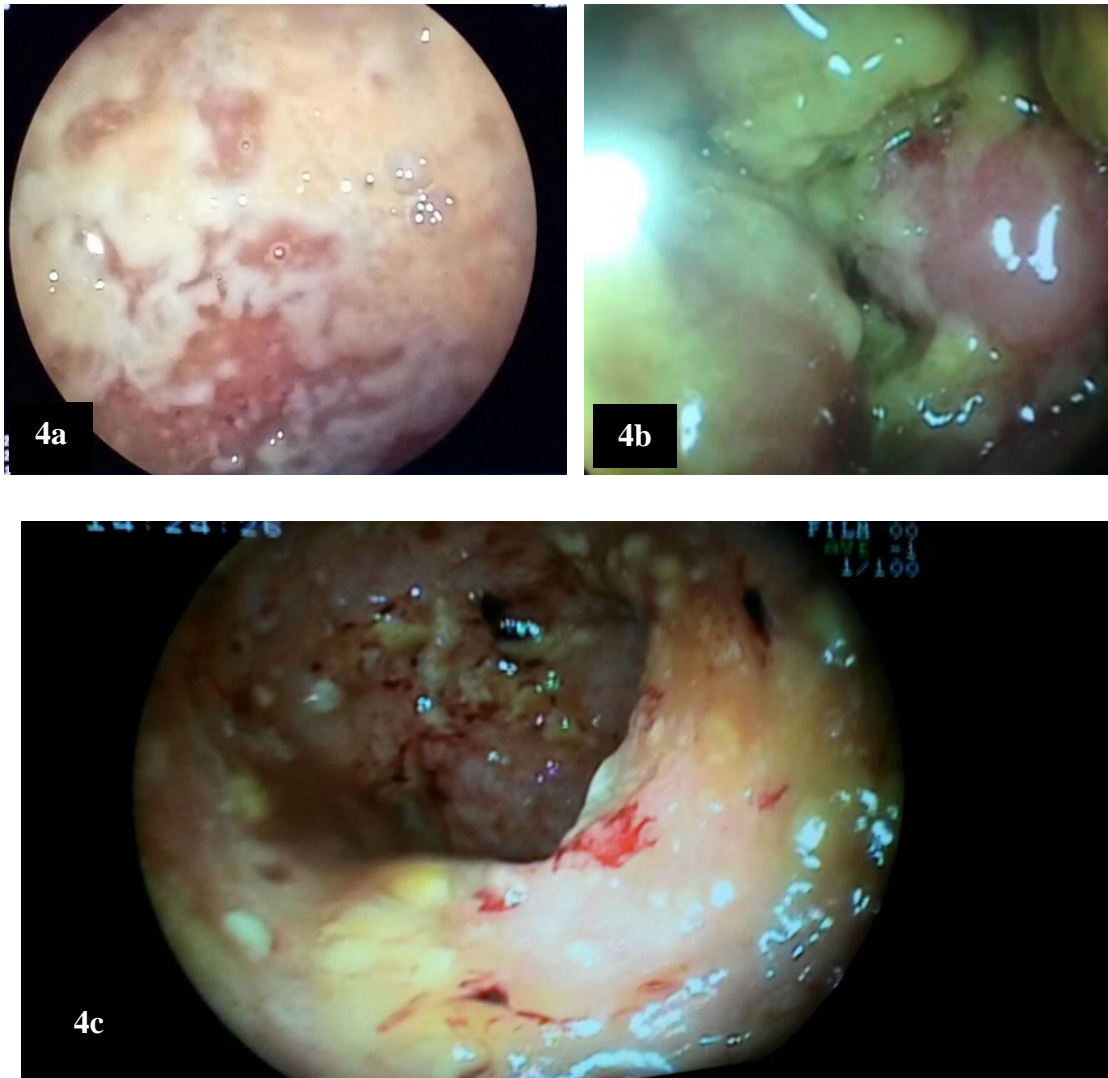


**Grafikon 8. Ribotipovi izolata CDI bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom (n=45)**

Svim bolesnicima koji nisu imali pozitivnu *C. difficile* kulturu stolice ili pozitivan test za detekciju toksina A/B *C. difficile* u stolici, a kod kojih je postojala visoka klinička sumnja kao i faktori rizika za CDI urađena je fleksibilna rektosigmoidoskopija. Fleksibilna rektosigmoidoskopija je takođe rađena i kod nekih bolesnika koji su imali pozitivan jedan od navedena 2 nalaza (kulturu ili brzi test za detekciju toksina), tako da je urađena kod ukupno 144 bolesnika odnosno 50,2% svih analiziranih, od kojih je 97 bolesnika lečeno teikoplaninom, a njih 47 vankomicinom.

Kod 2 bolesnika, oba lečena vankomicinom, uočena je samo hiperemija sluznice, dok je kod preostala 142 bolesnika verifikovan pseudomembranozni kolitis. Pojedinačne pseudomembrane viđene su kod 75 bolesnika (25 lečenih vankomicinom i 50 teikoplaninom), dok su kod 64 bolesnika (19 lečenih vankomicinom i 45 lečenih teikoplaninom) bile prisutne slivene pseudomembrane.

Slika 4 prikazuje izgled pseudomembranoznog kolitisa kod analiziranih bolesnika.

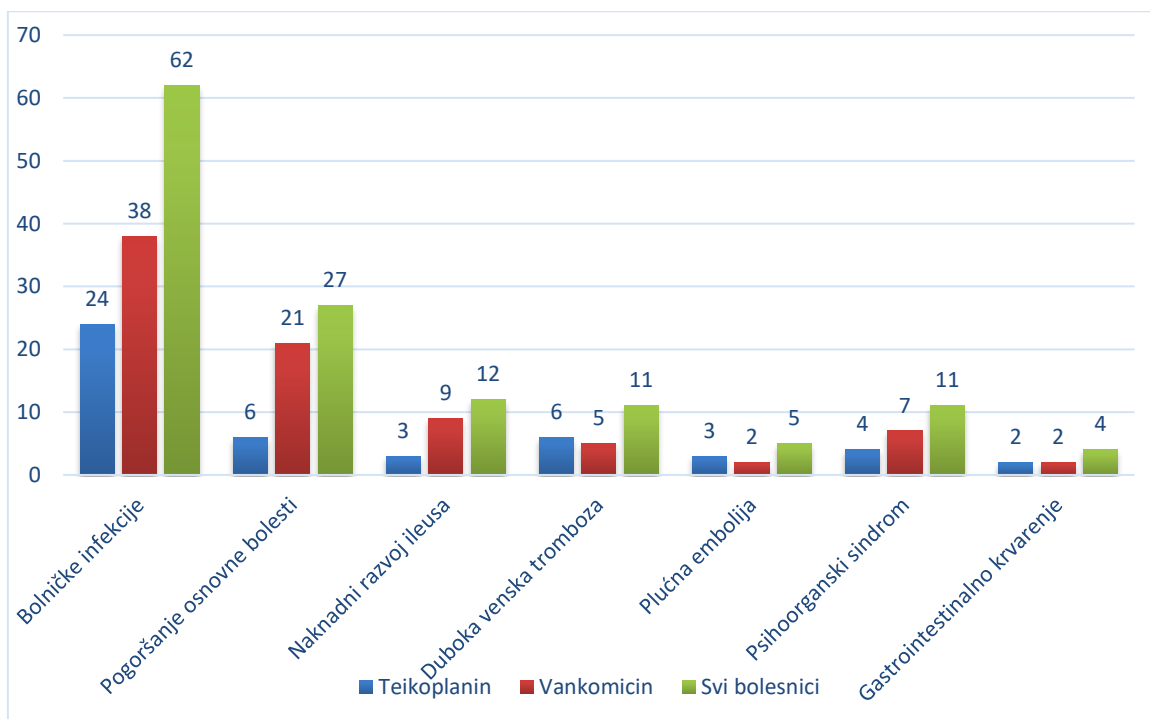


**Slika 4. Pseudomembranozni kolitis: 4a. i 4b. Slivene pseudomembrane; 4c. Pojedinačne pseudomembrane.**

#### 4.1.7. Komplikacije tokom lečenja CDI

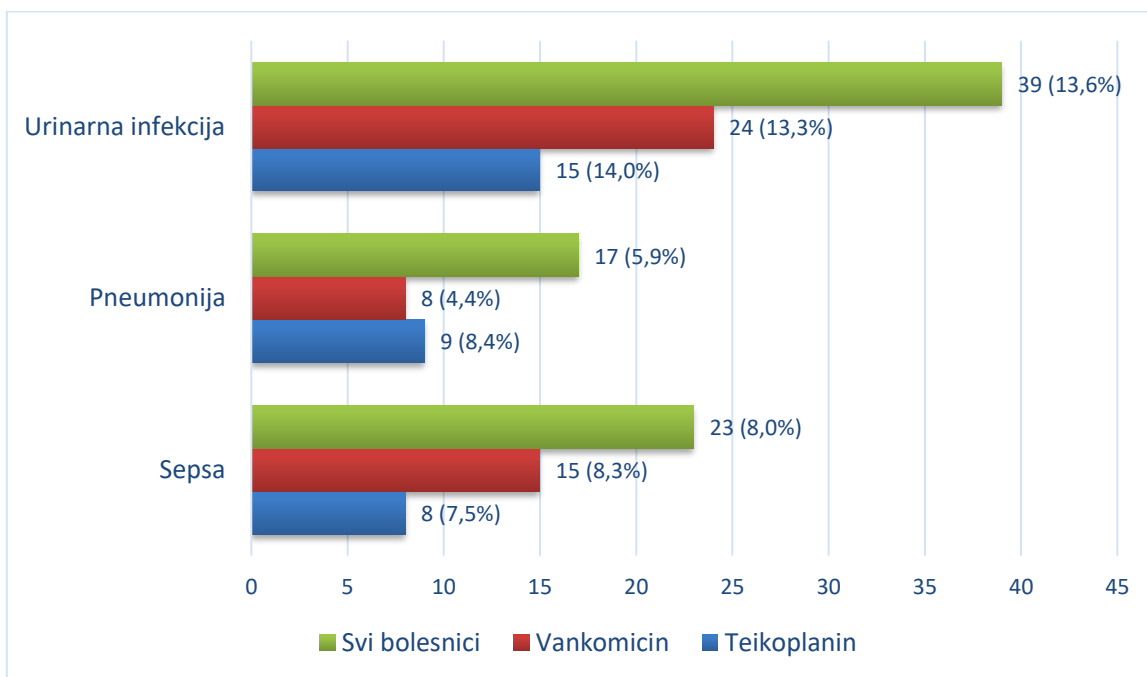
Kod ukupno 128 od 287 bolesnika (44,6%) došlo je do neke od komplikacija tokom lečenja CDI. Nije bilo statistički značajne razlike u ukupnoj učestalosti komplikacija između bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom [41/107 (38,3%) vs 87/180 (48,3%),  $p=0,111$ , OR (95%CI) 1,50 (0,92-2,45)].

Nakon započinjanja terapije kod 12 bolesnika (4,5%) i to kod 3 (2,8%) lečena teikoplaninom i 9 (5,0%) lečenih vankomicinom došlo je do razvoja hirurških komplikacija tj. ileusa sa ili bez razvoja toksičnog megakolona. Od ostalih, nehirurških komplikacija, najčešće su bile različite pridružene bolničke infekcije koje su nastale kod 61 (21,3%) bolesnika. Kod 11 (3,8%) bolesnika razvila se duboka venska tromboza donjih ekstremiteta, što je kod njih 5 (1,7%) dovelo do posledične plućne tromboembolije. Do pogoršanja kardiovaskularne, cerebrovaskularne ili plućne bolesti, tokom lečenja CDI došlo je kod 27 (9,4%) bolesnika. Ove i druge komplikacije kod bolesnika prikazane su na grafikonu 9.



**Grafikon 9. Komplikacije nastale tokom lečenja CDI kod bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom**

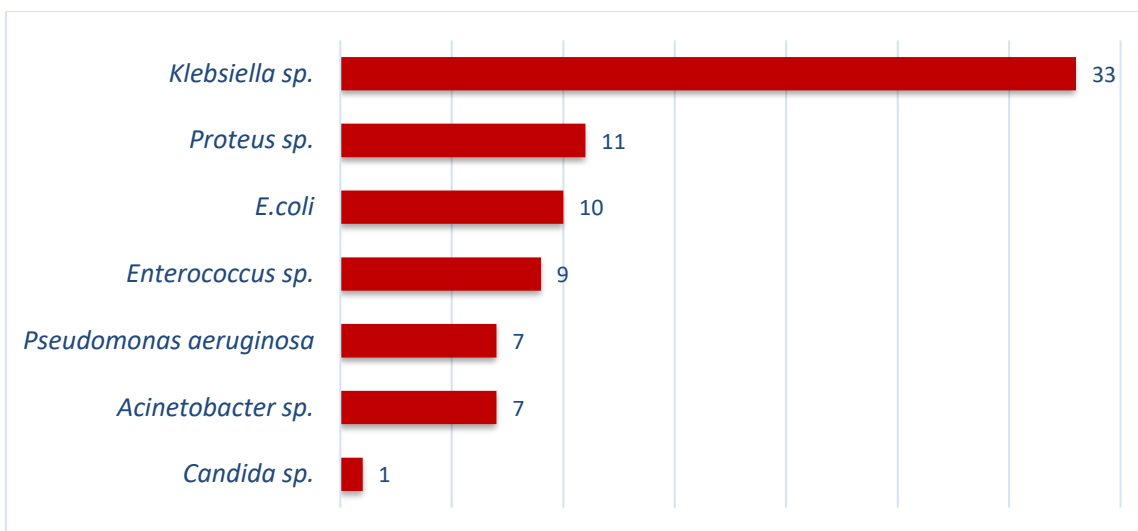
Među bolničkim infekcijama najzastupljenije su bile urinarne infekcije koje su dijagnostikovane kod 39 (13,6%) bolesnika. Pneumonija je utvrđena kod 17 (5,9%) bolesnika, a sepsa kod 23 (8,0%). Jedanaest (3,8%) bolesnika imalo je više od jedne bolničke infekcije. (Grafikon 10)



**Grafikon 10. Učestalost različitih bolničkih infekcija kod bolesnika sa CDI lečenih teikoplaninom i vankomicinom**

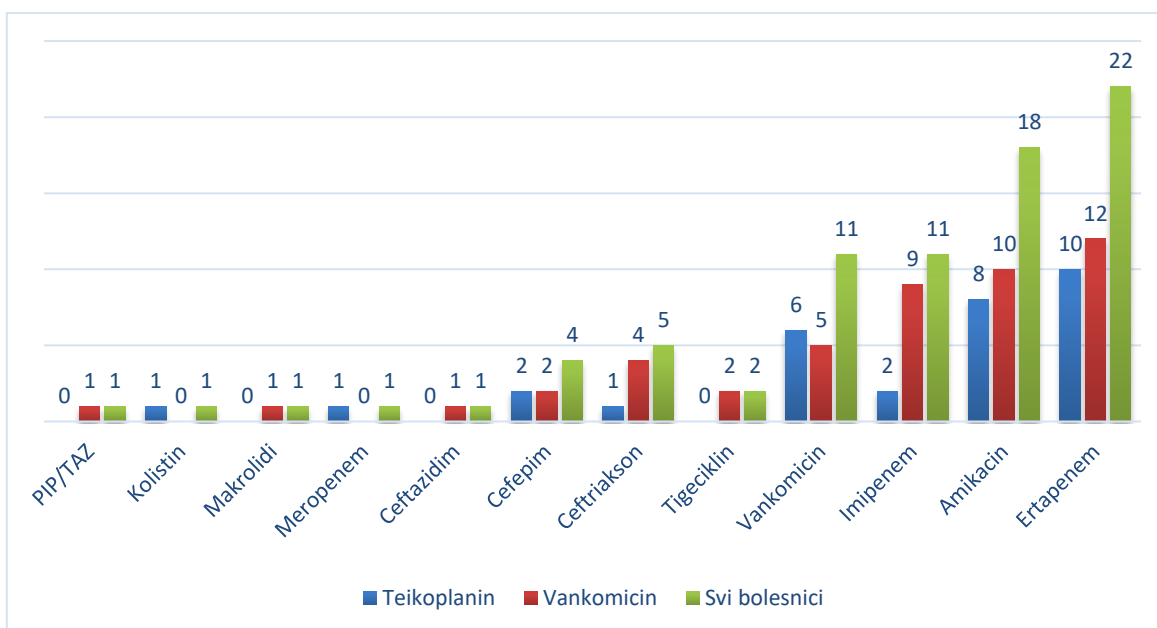
S obzirom na učestalost pridruženih infekcija kod bolesnika sa CDI, konkomitantna antibiotska terapija primenjivana je kod ukupno 62 (21,6%) bolesnika i to kod 24 (22,4%) bolesnika lečena teikoplaninom i 38 (21,1%) lečenih vankomicinom. Nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike u učestalosti primene pridružene antibiotske terapije između bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom [ $p=0,882$ , OR (95% CI) 0,92 (0,52-1,65)].

Najčešći izolati iz urinokultura i hemokultura kod analiziranih bolesnika bili su *Klebsiella sp.* izolovana iz 33 uzorka, *Proteus mirabilis* izolovan iz 11 i *Escherichia coli* iz 10 uzoraka. (Grafikon 11)



**Grafikon 11. Učestalost različitih izolata iz hemokultura i urinokultura bolesnika sa CDI lečenih teikoplaninom i vankomicinom**

S obzirom na najčešće izolate, najčešće primenjivani antibiotici, empirijski ili po pristizanju antibiograma bili su karbapenemi koje je primalo 34 bolesnika, zatim aminoglikozidi (amikacin) koji su ordinirani kod 18 bolesnika i vankomicin kod njih 11. (Grafikon 12)



**Grafikon 12. Drugi korišćeni antibiotici za lečenje pridruženih infekcija**

PIP/TAZ –piperacilin-tazobaktam

## 4.2. DRUGI DEO ISTRAŽIVANJA

### 4.2.1. Ishod lečenja bolesnika sa CDI na kraju terapije

Prosečna dužina trajanja terapije iznosila je  $15,2 \pm 4,2$  dana kod bolesnika lečenih teikoplaninom i  $15,7 \pm 5,1$  dana kod bolesnika lečenih vankomicinom. Nije utvrđena statistički značajna razlika u dužini trajanja terapije teikoplaninom i vankomicinom ( $p=0,465$ ).

Kliničko izlečenje bolesnika postignuto je kod 97 (90,7%) bolesnika lečenih teikoplaninom i 143 (79,4%) bolesnika lečena vankomicinom. Utvrđena je statistički značajna razlika u učestalosti kliničkog izlečenja kod bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom [ $p=0,013$ , OR (95% CI) 2,51 (1,19-5,28)]. Refraktarnost na primenu terapije statistički značajno češće je postojala kod bolesnika lečenih vankomicinom [ $p=0,020$ , OR (95% CI) 0,12 (0,02-0,94)]. Smrtni ishod je bio češći kod bolesnika lečenih vankomicinom u odnosu na lečene teikoplaninom, ali ta razlika nije statistički značajna [ $p=0,314$ , OR (95% CI) 0,62 (0,26-1,43)] (Tabela 11)

**Tabela 11. Ishod lečenja CDI na kraju terapije teikoplaninom i vankomicinom**

<i>Ishod</i>	<i>Teikoplanin</i> <i>n=107</i>	<i>Vankomicin</i> <i>n=180</i>	<i>p</i>	<i>OR (95% CI)</i>
<i>Kliničko izlečenje</i>	97 (90,7%)	143 (79,4%)	<b>0,013</b>	<b>2,51 (1,19-5,28)</b>
<i>Odsustvo izlečenja</i>	1 (0,9%)			
<i>(refraktarnost na terapiju)</i>		13 (7,2%)	<b>0,020</b>	<b>0,12 (0,02-0,94)</b>
<i>Prevod na hirurgiju</i>	1 (0,9%)	3 (1,7%)	1,000	0,56 (0,06-5,42)
<i>Smrtni ishod</i>	8 (7,5%)	21 (11,7%)	0,314	0,62 (0,26-1,43)

Kod bolesnika sa teškom nekomplikovanom formom bolesti učestalost refraktarnih oblika bila je statistički značajno ređa kod onih lečenih teikoplaninom u odnosu na lečene vankomicinom ( $p=0,049$ ). Nije utvrđena statistički značajna razlika u učestalosti kliničkog izlečenja, smrtnog ishoda, ni refraktarnih slučajeva kod bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom kada se odvojeno posmatra grupa bolesnika sa teškim komplikovanim oblikom bolesti. (Tabele 12 i 13)

**Tabela 12. Ishod lečenja CDI na kraju terapije teikoplaninom i vankomicinom kod bolesnika sa teškom nekomplikovanom formom bolesti (n=222)**

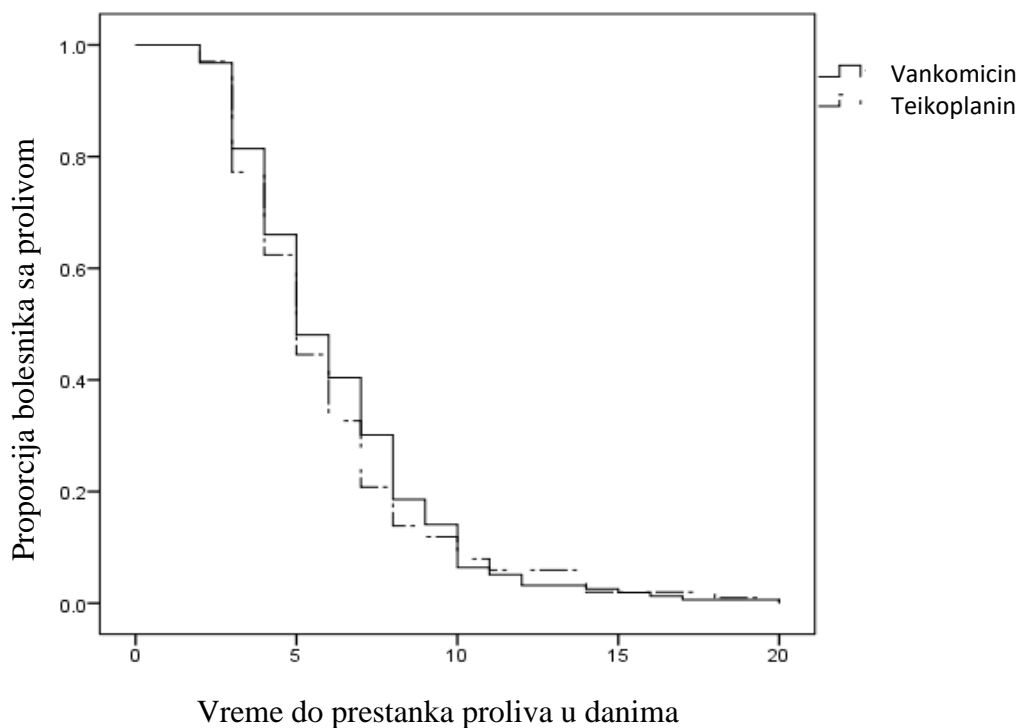
<i>Ishod</i>	<i>Teikoplanin</i> <i>n=84</i>	<i>Vankomicin</i> <i>n=138</i>	<i>p</i>	<i>OR (95% CI)</i>
<i>Kliničko izlečenje</i>	80 (95,2%)	120 (87,0%)	0,062	3,00 (0,98-9,19)
<i>Odsustvo izlečenja</i> <i>(refraktarnost na</i> <i>terapiju)</i>	0 (0,0%)	7 (5,1%)	<b>0,049</b>	/
<i>Prevod na hirurgiju</i>	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1,000	/
<i>Smrtni ishod</i>	4 (4,8%)	11 (8,0%)	0,420	0,58 (0,18-1,89)

**Tabela 13. Ishod lečenja CDI na kraju terapije teikoplaninom i vankomicinom kod bolesnika sa teškom komplikovanom formom bolesti (n=65)**

<i>Ishod</i>	<i>Teikoplanin</i> <i>n=23</i>	<i>Vankomicin</i> <i>n=42</i>	<i>p</i>	<i>OR (95% CI)</i>
<i>Kliničko izlečenje</i>	17 (73,9%)	23 (41,6%)	0,184	2,34 (0,77-7,11)
<i>Odsustvo izlečenja</i> <i>(refraktarnost na</i> <i>terapiju)</i>	1 (4,3%)	6 (14,3%)	0,406	0,27 (0,03-2,42)
<i>Prevod na hirurgiju</i>	1 (4,3%)	3 (7,1%)	1,000	0,59 (0,06-6,03)
<i>Smrtni ishod</i>	4 (17,4%)	10 (23,8%)	0,754	0,67 (0,19-2,45)

Prosečno vreme do prestanka proliva nakon započinjanja odgovarajuće terapije iznosilo je  $6,0 \pm 3,1$  dana kod bolesnika lečenih teikoplaninom, a  $6,2 \pm 3,4$  dana kod bolesnika lečenih vankomicinom.

Na grafikonu 13 prikazana je *Kaplan-Meier*-ova kriva koja pokazuje vreme do prestanka proliva kod bolesnika sa CDI u zavisnosti od terapijskog režima.



**Grafikon 13. *Kaplan-Meier*-ova analiza procenjenog vremena do prestanka proliva kod bolesnika sa teškom i teškom komplikovanom CDI lečenih teikoplaninom i vankomicinom**

Dan 0 je dan početka terapije. Procenjena mediana vremena do prestanka proliva bila je 5 dana (95% CI 4-6 dana) kod bolesnika lečenih teikoplaninom i isto toliko kod bolesnika lečenih vankomicinom (mediana 5 dana, 95% CI 4-6 dana).

Nije utvrđena statistički značajna razlika u vremenu do prestanka proliva kod bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom *log rank* testom ( $p=0.300$ ).



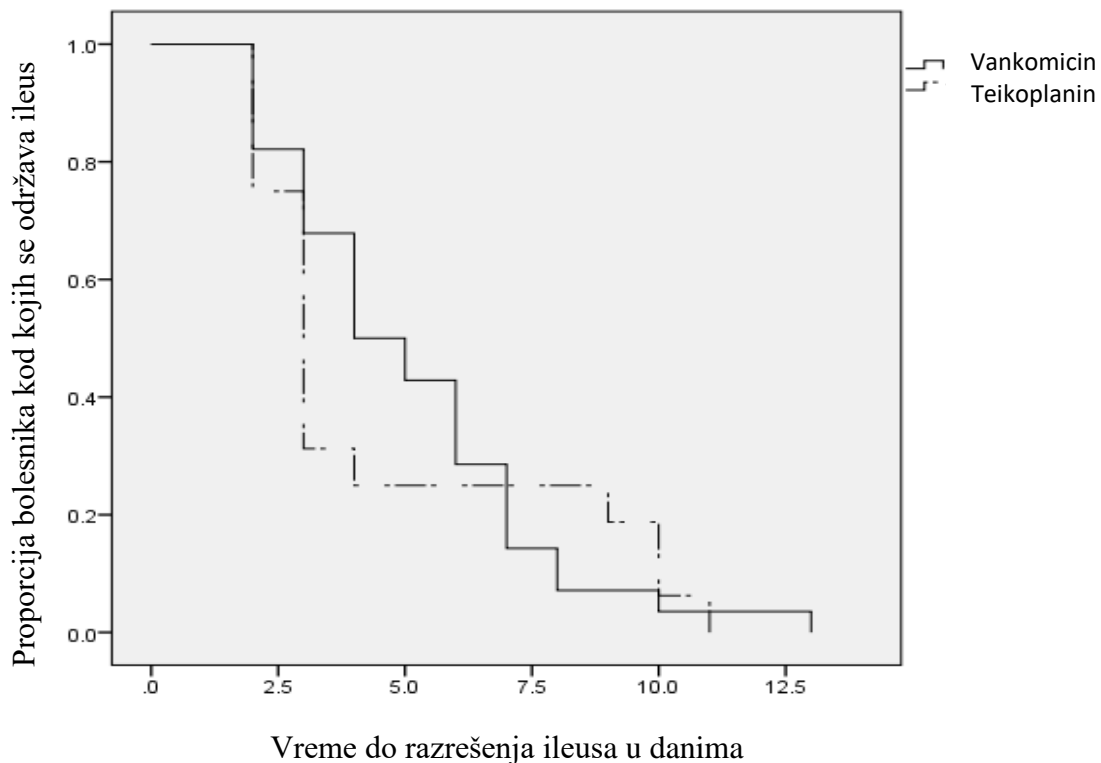
Vreme od započinjanja terapije do prestanka proliva bilo je statistički značajno duže kod bolesnika sa komplikovanim CDI, bolesnika sa ileusom i onih koji su primali pridruženu antibiotsku terapiju ( $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$  i  $p < 0,001$ , respektivno). (Tabela 14)

**Tabela 14. Ispitivanje uticaja različitih faktora na dužinu trajanja proliva po započinjanju odgovarajuće terapije CDI**

<i>Karakteristika</i>	<i>Broj bolesnika</i>	<i>Vreme do prestanka proliva u danima</i> <i>srednja vrednost ± SD</i>	<i>p</i>
<i>Starost ≥ 65 godina</i>	202	6,3±3,3	0,214
<i>Starost &lt; 65 godina</i>	55	5,7±2,9	
<i>Teška komplikovana CDI</i>	46	8,7±4,5	<b>&lt;0,001</b>
<i>Teška nekomplikovana CDI</i>	212	5,6±2,5	
<i>Sa ileusom</i>	37	9,3±4,5	<b>&lt;0,001</b>
<i>Bez ileusa</i>	221	5,6±2,6	
<i>Sa pridruženom antibiotskom terapijom</i>	54	7,5±3,8	<b>&lt;0,001</b>
<i>Bez pridružene antibiotske terapije</i>	204	5,8±2,9	
<i>Prva epizoda CDI</i>	164	6,4±3,4	0,065
<i>Prvi recidiv CDI</i>	94	5,7±2,8	
<i>Broj Le &gt; 15 000/mm<sup>3</sup></i>	117	6,5±3,4	0,098
<i>Broj Le ≤ 15 000/mm<sup>3</sup></i>	141	5,8±2,9	
<i>Teikoplanin</i>	102	6,0±3,4	0,672
<i>Vankomicin</i>	156	6,2±3,1	
<i>Trajanje proliva do početka terapije &gt;10 dana</i>	96	6,0±2,6	0,552
<i>Trajanje proliva do početka terapije ≤ 10 dana</i>	162	6,2±3,5	
<i>Broj stolica &gt;10/dan</i>	20	5,7±2,3	0,473
<i>Broj stolica ≤ 10/dan</i>	238	6,2±3,3	

Vreme proteklo do razrešenja ileusa od momenta započinjanja terapije u proseku je iznosilo  $4,6 \pm 3,3$  dana kod bolesnika lečenih teikoplaninom i  $5,1 \pm 2,7$  dana kod onih lečenih vankomicinom.

Na grafikonu 14 prikazana je *Kaplan-Meier*-ova kriva koja pokazuje vreme do prestanka ileusa kod bolesnika sa CDI u zavisnosti od terapijskog režima.



**Grafikon 14. *Kaplan-Meier* analiza procenjenog vremena do prestanka ileusa kod bolesnika sa teškom komplikovanom CDI lečenih teikoplaninom i vankomicinom**

Dan 0 je dan početka terapije. Procenjena mediana vremena do rezrešenja ileusa bila je 3 dana (95% CI 2-4 dana) kod bolesnika lečenih teikoplaninom i 4 dana kod bolesnika lečenih vankomicinom (95% CI 3-6 dana).

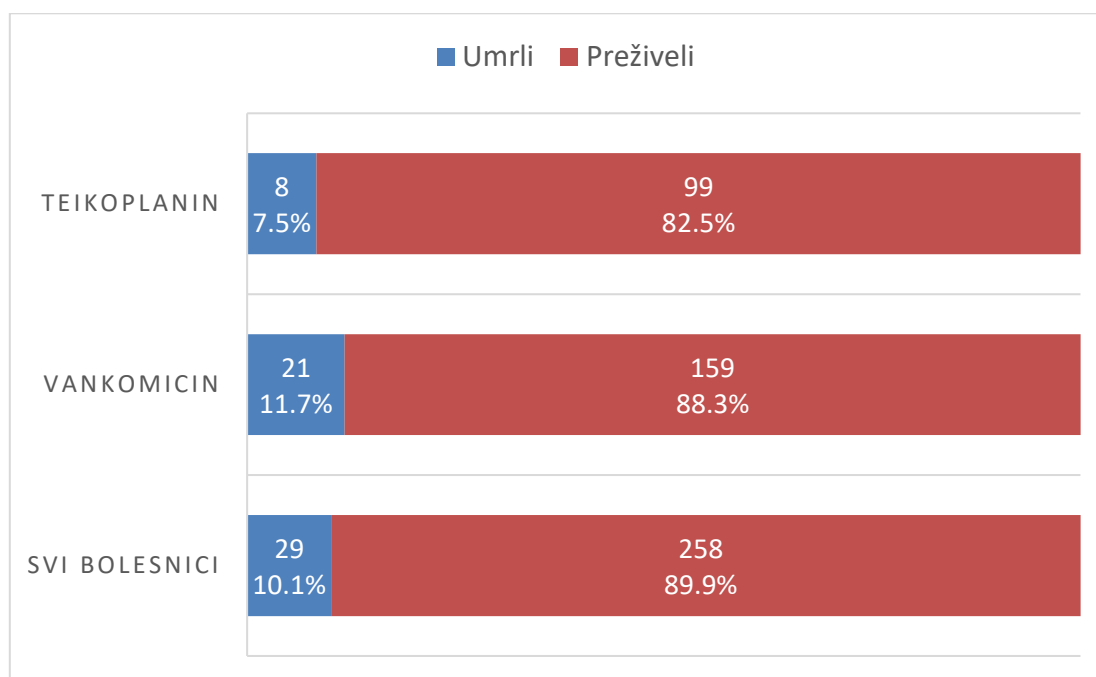
Nije utvrđena statistički značajna razlika u vremenu proteklom do razrešenja ileusa kod bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom *log rank* testom ( $p=0,717$ ).

Lečenje vankomicinom češće je dovelo do neuspeha u lečenju u smislu refraktarnosti na primenjenu terapiju u odnosu na teikoplanin ( $p=0,011$ ). Refraktarnost na terapiju takođe je statistički značajno češće bila prisutna kod bolesnika sa komplikovanim oblikom CDI ( $p=0,006$ ). Multivarijantna analiza (binarna logistička regresija) potvrdila je primenu vankomicina i komplikovanu formu CDI kao nezavisne faktore rizika za održavanje simptoma i znakova bolesti nakon 14 dana terapije. (Tabela 15)

**Tabela 15. Faktori povezani sa refraktarnošću na primenjenu terapiju za lečenje CDI**

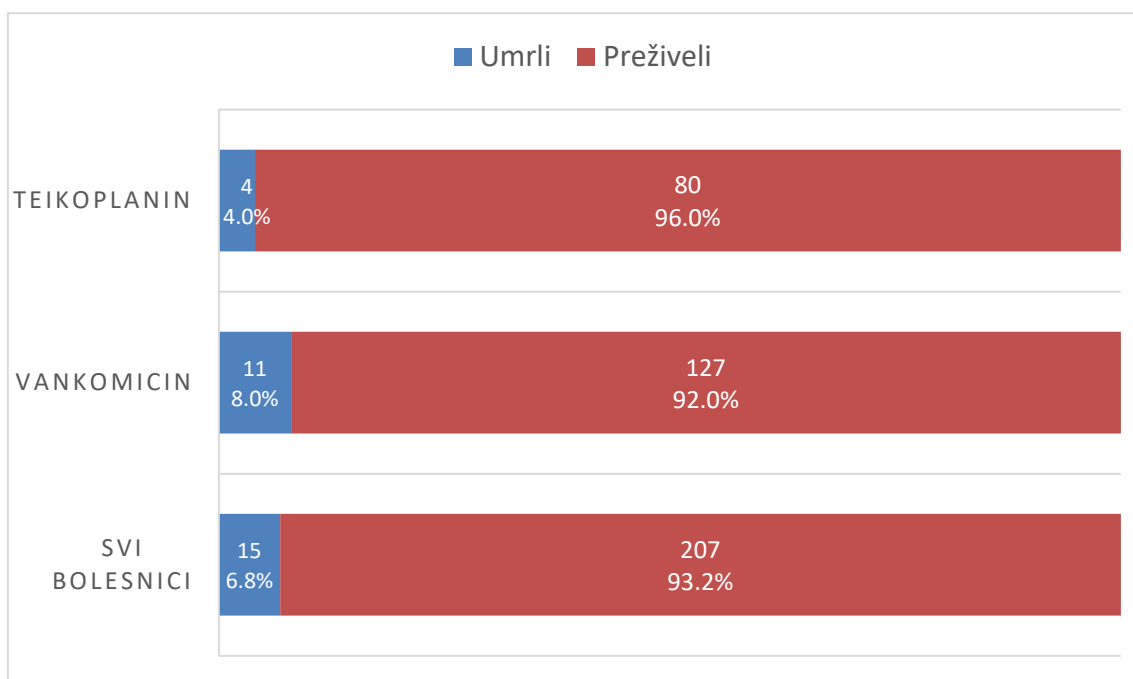
Karakteristika	Neizlečeni/svi bolesnici koji su završili 14 dana terapije n/N (%)	Univarijantna analiza		Multivarijantna analiza	
		p	OR (95%CI)	p	OR (95%CI)
Broj Le > 15 000/mm <sup>3</sup>	6/113 (5,3%)	1,000	1,07 (0,36-3,18)	0,411	0,60 (0,18-2,01)
Broj Le ≤ 15 000/mm <sup>3</sup>	8/141 (5,7%)				
Starost ≥ 65 godina	9/194 (4,6%)	0,326	1,90 (0,61-5,91)	0,485	0,48 (0,14-1,65)
Starost < 65 godina	5/59 (8,5%)				
Primena teikoplanina	1/98 (1,0%)	<b>0,020</b>	8,81(1,13-68,51)	<b>0,031</b>	0,10 (0,01-0,82)
Primena vankomicina	13/156 (8,3%)				
Prva epizoda CDI	10/162 (6,2%)	0,776	1,44(0,44-4,75)	0,442	0,61 (0,17-2,14)
Prvi recidiv CDI	4/92 (4,3%)				
Teška nekomplikovana CDI	7/207 (3,4%)	<b>0,006</b>	0,2 (0,06-0,60)	<b>0,005</b>	5,47 (1,68-17,85)
Teška komplikovana CDI	7/47 (14,9%)				
Sa pridruženom antibiotskom terapijom	4/51 (7,8%)	0,490	0,61 (0,18-2,02)	0,910	1,08 (0,29-3,99)
Bez pridružene antibiotske terapije	10/203 (4,9%)				

Smrtni ishod je nastupio kod ukupno 29 (10,1%) bolesnika. Nije bilo statistički značajne razlike u učestalosti smrtnog ishoda između bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom [8/107 (7,5%) vs. 21/180 (11,7%),  $p=0,314$ , OR (95%CI) 0,62 (0,26-1,43)]. (Grafikon 15)

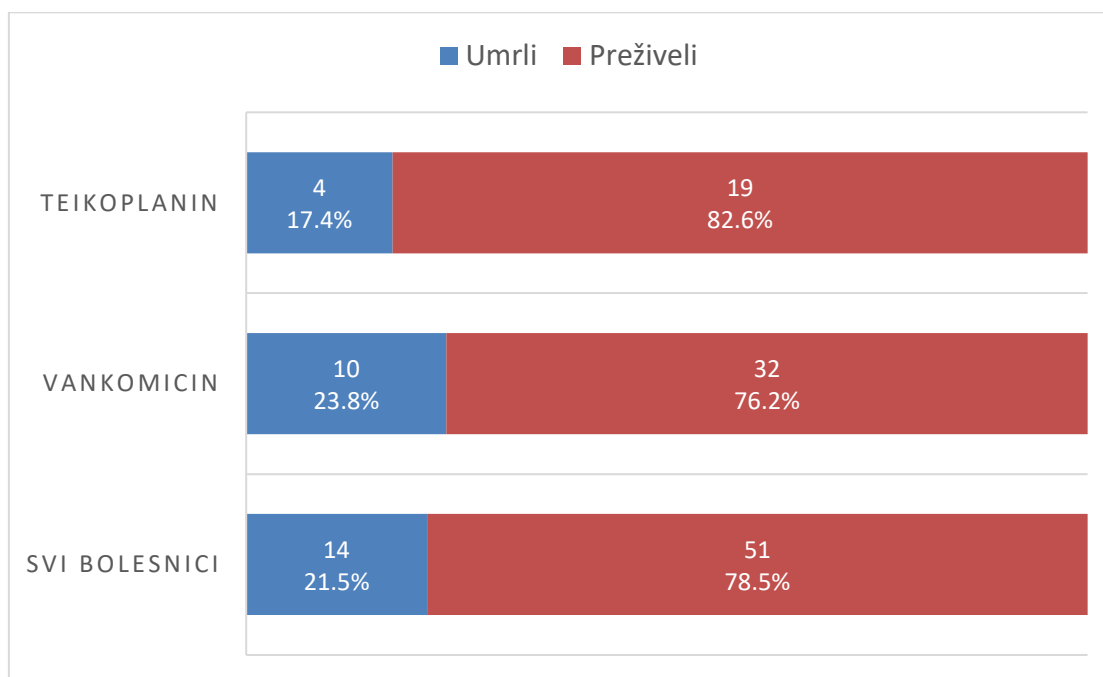


**Grafikon 15. Ishod CDI kod bolesnika sa teškom i onih sa komplikovanom formom bolesti lečenih teikoplaninom i vankomicinom (n=287)**

Iako je smrtni ishod bio češći kod bolesnika lečenih vankomicinom u odnosu na bolesnike lečene teikoplaninom kako u grupi onih sa teškom nekomplikovanom tako i u grupi bolesnika sa komplikovanom formom CDI, razlika u smrtnosti nije bila statistički značajna ni u jednoj od kategorija bolesti [11/138 (8,0%) vs. 4/84 (4,8%),  $p=0,420$ , OR (95%CI) 0,58 (0,18-1,89) i 10/42 (23,8%) vs 4/23 (17,4%),  $p=0,754$ , OR (95%CI) 0,67 (0,19-2,45), respektivno]. (Grafikoni 16 i 17)



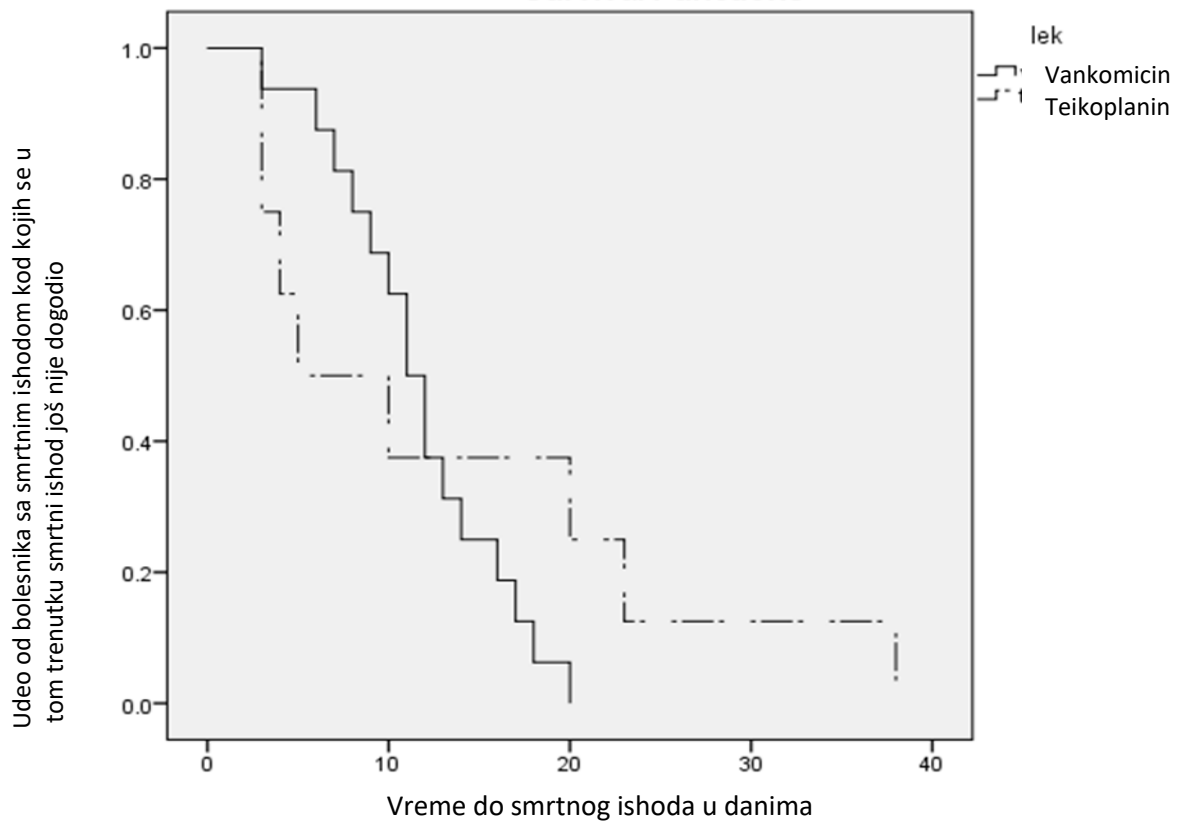
**Grafikon 16. Ishod CDI kod bolesnika sa teškom nekomplikovanom formom bolesti lečenih teikoplaninom i vankomicinom (n=222)**



**Grafikon 17. Ishod CDI kod bolesnika sa teškom komplikovanom formom bolesti lečenih teikoplaninom i vankomicinom (n=65)**

Vreme do smrtnog ishoda nakon započinjanja terapije u proseku je iznosilo  $13,2 \pm 12,7$  dana kod bolesnika lečenih teikoplaninom i  $11,7 \pm 4,6$  dana kod onih lečenih vankomicinom.

Na grafikonu 18 prikazana je *Kaplan-Meier*-ova kriva vremena do smrtnog ishoda kod bolesnika sa CDI u zavisnosti od terapijskog režima.



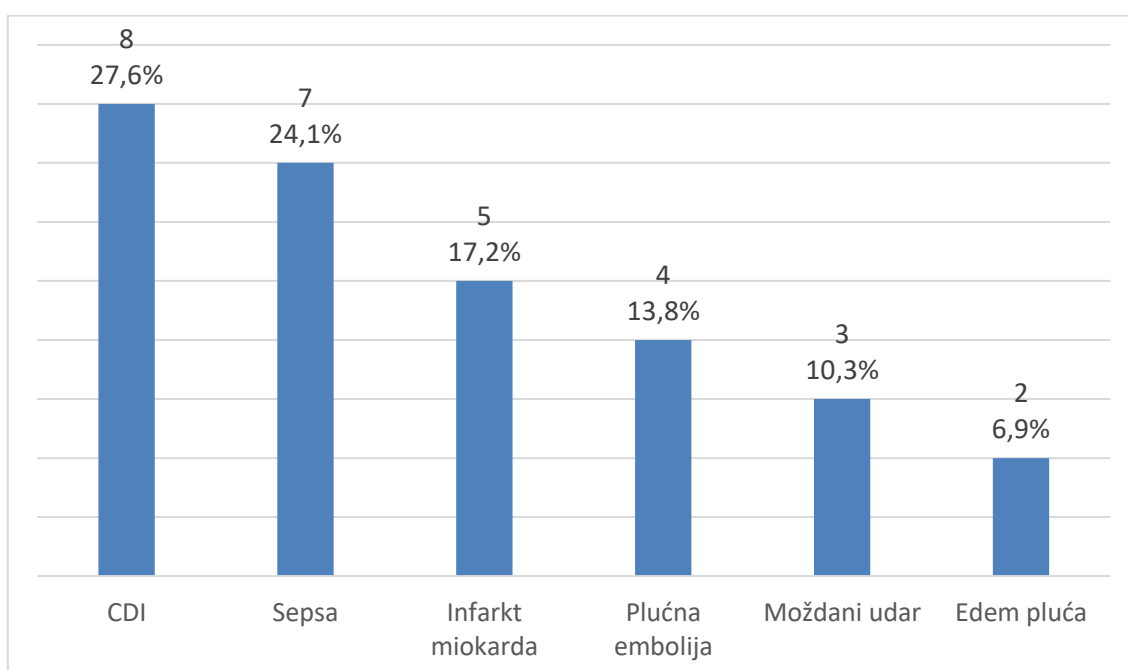
**Grafikon 18. Kaplan-Meier analiza procenjenog vremena do smrtnog ishoda kod bolesnika sa teškom i komplikovanom CDI lečenih teikoplaninom i vankomicinom**

Dan 0 je dan početka terapije. Procenjena mediana vremena do smrtnog ishoda bila je 5 dana (95% CI 1-13 dana) kod bolesnika lečenih teikoplaninom i 11 dana kod bolesnika lečenih vankomicinom (95% CI 9-13 dana).

Nije utvrđena statistički značajna razlika u vremenu do smrtnog ishoda kod bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom log rank testom ( $p=0,398$ ).

Uzrok smrtnog ishoda kod 8/29 (27,6%) bolesnika bila je sama CDI tj. septični šok u okviru komplikovane CDI sa ili bez razvoja diseminovane intravaskularne koagulacije.

Kod 7/29 (24,1%) bolesnika smrtni ishod je nastupio usled pridružene sepe drugog ishodišta (urosepe), dok se smrtni ishod kao posledica bolesti srca (srčano popuštanje ili verovatan infarkt miokarda) dogodio kod 7/29 (24,1%) bolesnika. (Grafikon 19)



**Grafikon 19. Uzroci smrti bolesnika sa CDI**

Na tabeli 16 je prikazana univarijantna i multivarijantna analiza faktora rizika za smrtni ishod bolesnika sa CDI. Nakon multivarijantne analize godine starosti, postojanje komplikovane forme bolesti i leukocitoza preko 30000/mm<sup>3</sup> izdvojili su se kao nezavisni faktori rizika za smrtni ishod ( $p=0,019$ ,  $p=0,014$  i  $p=0,028$ , respektivno). Primena određene terapijske opcije (vankomicina ili teikoplanina) nije se pokazala kao faktor rizika za smrtni ishod ( $p=0,235$ ) (Tabela 16)

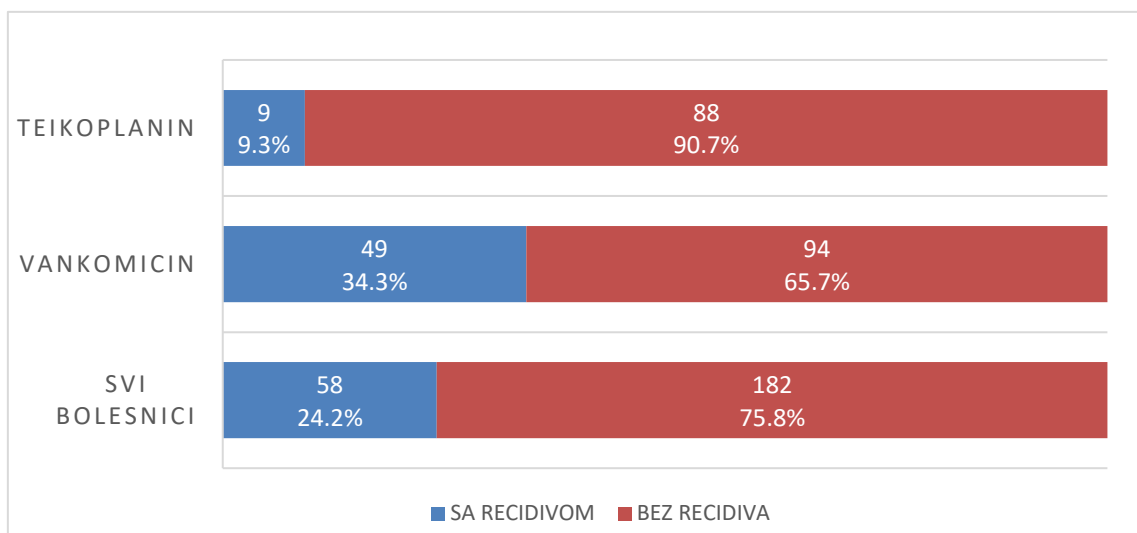
**Tabela 16. Faktori rizika za smrtni ishod bolesnika sa CDI lečenih vankomicinom i teikoplaninom**

<i>Faktor rizika</i>	<i>Broj umrlih bolesnika/ukupan broj sa tim faktorom rizika</i> <i>n/N (%)</i>	<i>Univarijantna analiza</i>		<i>Multivarijantna</i>
		<i>p</i>	<i>OR 95% CI</i>	<i>analiza</i> <i>p</i>
<b><i>Godine starosti</i></b>	<b>/</b>	<b>0,002</b>	<b>/</b>	<b>0,019</b>
<i>Starost preko 65 godina</i>	27/223 (12,1%)	0,054	0,24 (0,06-1,04)	0,908
<i>Prvi recidiv CDI</i>	8/101 (7,9%)	0,417	1,48 (0,63-3,49)	0,854
<i>Broj leukocita &gt; 15000/mm<sup>3</sup></i>	19/135 (14,1%)	0,049	0,43(0,19-0,96)	0,608
<b><i>Broj leukocita &gt; 30000/mm<sup>3</sup></i></b>	<b>5/14 (35,7%)</b>	<b>0,008</b>	<b>0,17 (0,05-0,56)</b>	<b>0,028</b>
<b><i>Komplikovana forma CDI</i></b>	<b>14/64 (21,9%)</b>	<b>0,001</b>	<b>0,25 (0,12-0,57)</b>	<b>0,014</b>
<i>Postojanje ileusa</i>	9/51 (17,6%)	0,070	0,43 (0,18-1,01)	0,219
<i>Postojanje pridružene infekcije</i>	10/62 (16,1%)	0,095	0,48 (0,21-1,09)	0,336
<i>Primena vankomicina</i>	21/179 (11,7%)	0,313	1,64 (0,70-3,85)	0,235



#### 4.2.2. Ishod lečenja bolesnika sa CDI nakon perioda praćenja od 8 nedelja

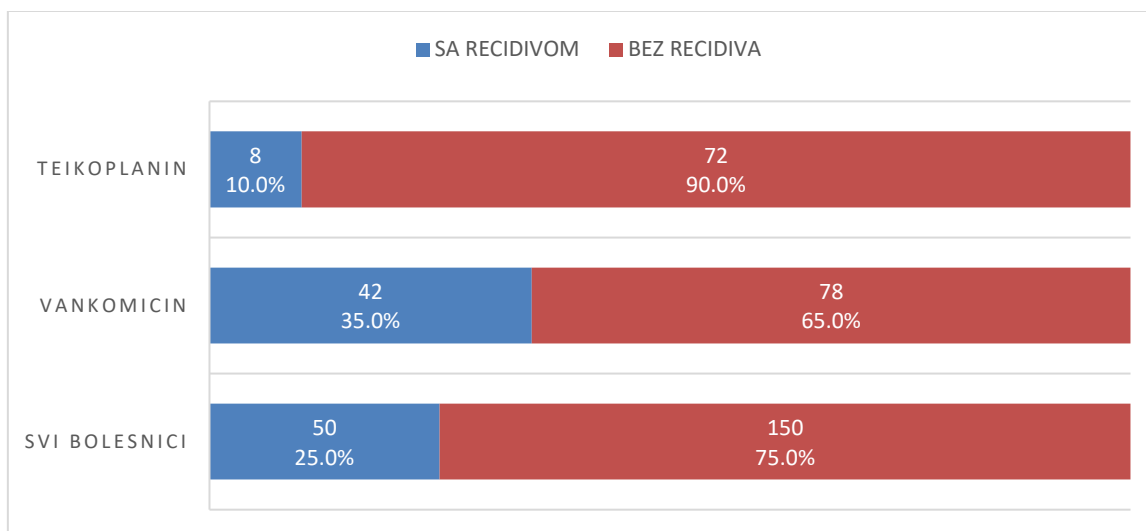
Nakon perioda praćenja od 8 nedelja kod 9/97 (9,3%) bolesnika lečenih teikoplaninom i 49/123 (34,3%) bolesnika lečenih vankomicinom došlo je do pojave recidiva CDI. (Grafikon 20)



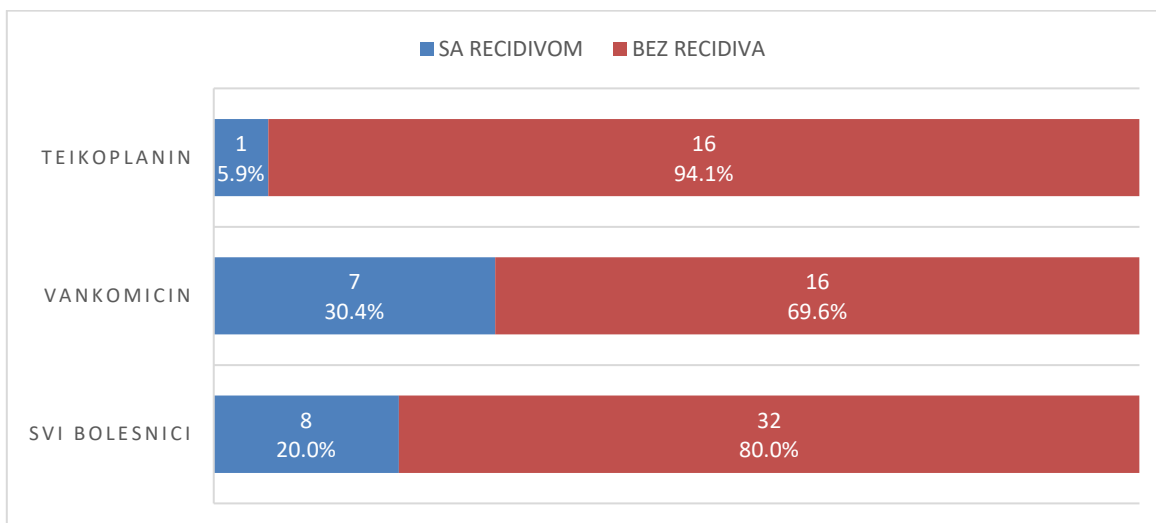
**Grafikon 20. Pojava recidiva CDI kod izlečenih bolesnika sa teškom i komplikovanom formom bolesti lečenih teikoplaninom i vankomicinom 8 nedelja po završetku terapije (n=240)**

Bolesnici sa CDI lečeni teikoplaninom imali su statistički značajno manju učestalost recidiva bolesti u odnosu na bolesnike lečene vankomicinom [ $p < 0,001$ , OR (95%CI) 0,20 (0,09-0,42)].

Bolesnici sa teškom nekomplikovanom formom bolesti lečeni teikoplaninom imali su statistički značajno manju učestalost recidiva bolesti u odnosu na one lečene vankomicinom [8/80 (10,0%) vs 42/120 (35,0%),  $p < 0,001$ , OR (95%CI) 0,21 (0,09-0,47)], dok kod bolesnika sa komplikovanim oblikom CDI iako su bolesnici lečeni teikoplaninom imali manju učestalost recidiva nego bolesnici lečeni vankomicinom, razlika nije bila statistički značajna [1/17 (5,9%) vs 7/23 (30,4%),  $p = 0,107$ , OR (95%CI) 0,14 (0,02-1,30)]. (Grafikoni 21 i 22)



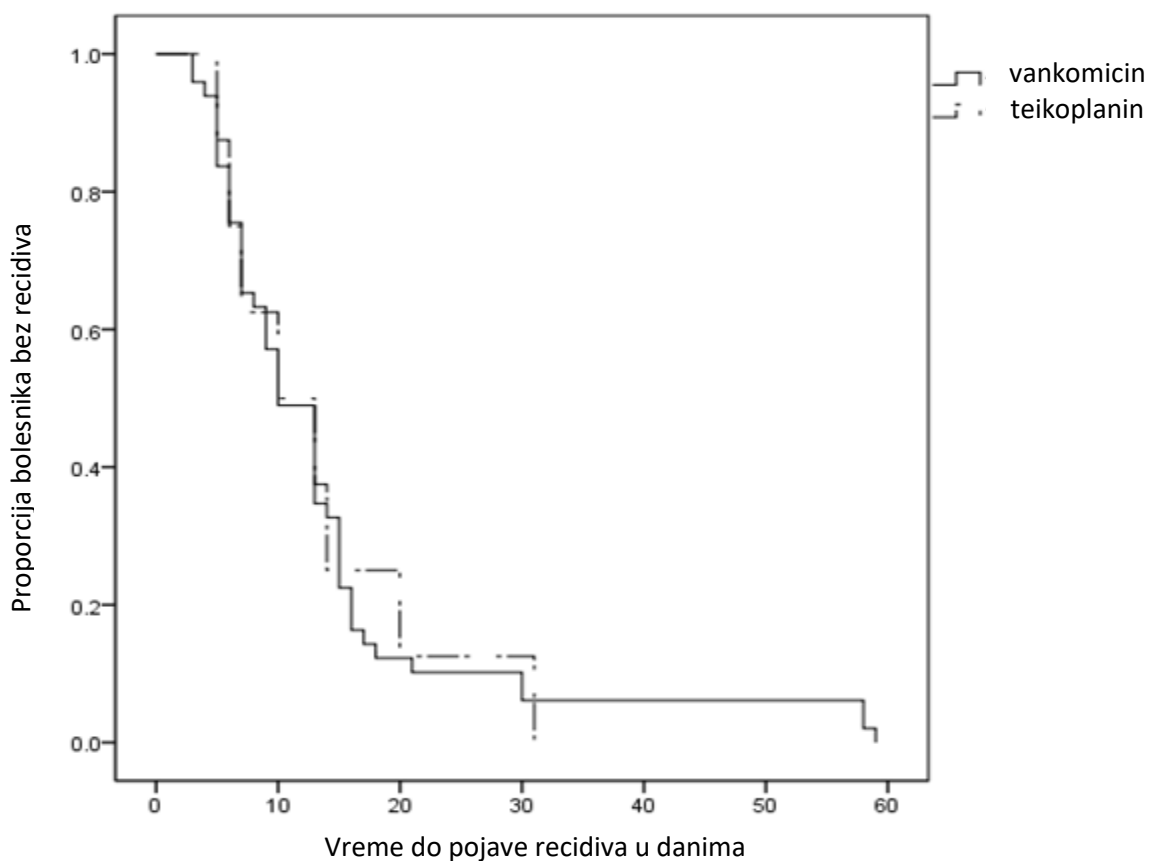
**Grafikon 21. Pojava recidiva CDI kod izlečenih bolesnika sa teškom nekomplikovanom formom bolesti lečenih teikoplaninom i vankomicinom 8 nedelja po završetku terapije (n=200)**



**Grafikon 22. Pojava recidiva CDI kod izlečenih bolesnika sa teškom komplikovanom formom bolesti lečenih teikoplaninom i vankomicinom 8 nedelja po završetku terapije (n=40)**

Vreme do pojave recidiva bolesti nakon završene terapije u proseku je iznosilo  $13,2 \pm 8,7$  dana kod bolesnika lečenih teikoplaninom i  $14,0 \pm 12,9$  dana kod onih lečenih vankomicinom.

Na grafikonu 23 prikazana je *Kaplan-Meier* analiza vremena do pojave recidiva CDI u zavisnosti od terapijskog režima.



**Grafikon 23. *Kaplan-Meier* analiza procenjenog vremena do pojave recidiva bolesti kod bolesnika sa teškom i komplikovanom CDI lečenih teikoplaninom i vankomicinom**

Dan 0 je dan završetka terapije. Procenjena mediana vremena do recidiva bila je 10 dana (95% CI 2-18 dana) kod bolesnika lečenih teikoplaninom i 10 dana kod bolesnika lečenih vankomicinom (95% CI 8-13 dana). Nije utvrđena statistički značajna razlika u vremenu do pojave recidiva kod bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom *log rank* testom ( $p=0,874$ ).

Na tabelama 17 i 18 prikazana je analiza faktora rizika za pojavu recidiva CDI nakon uspešne terapije. Univarijantnom analizom primena vankomicina, broj leukocita, leukocitoza preko  $15000/\text{mm}^3$  i hipoalbuminemija ispod  $30\text{g/l}$  pokazali su se kao faktori

povezani sa većom učestalošću recidiva bolesti ( $p < 0,001$ ,  $p = 0,026$ ,  $p = 0,004$  i  $p = 0,014$ , respektivno). (Tabela 17)

**Tabela 17. Faktori rizika za recidiv kod bolesnika sa teškom i komplikovanom CDI lečenih teikoplaninom i vankomicinom – univarijantna analiza**

Faktor rizika	Pacijenti sa recidivom/svi izlečeni bolesnici n/N (%)	Univarijantna analiza	
		p	OR (95% CI)
Godine starosti	/	0,760	/
Starost > 65 godina	48/185 (25,9)	0,286	1,54 (0,72-3,30)
Starost ≤ 65 godina	10/55 (18,2)		
<b>Terapijski režim</b>			
Teikoplanin	9/97 (9,3)	<b>&lt;0,001</b>	0,20 (0,09-0,42)
Vankomicin	49/143 (34,3)		
Broj leukocita ( $Le/mm^3$ )	/	<b>0,026</b>	/
Broj leukocita > 15 000/ $mm^3$	16/107 (15,0)	<b>0,004</b>	0,38 (0,20-0,73)
Broj leukocita ≤ 15 000/ $mm^3$	42/133 (31,6)		
<b>C reaktivni protein</b>			
> 150 mg/L	12/46 (26,1)	0,698	1,17 (0,55-2,48)
≤ 150 mg/L	38/164 (23,2)		
<b>Serumski kreatinin</b>			
≥ 1,5 puta u odnosu na nivo pre bolesti	10/27 (37,0)	0,152	1,97 (0,85-4,59)
< 1,5 puta u odnosu na nivo pre bolesti	48/209 (23,0)		
<b>Albumin</b>			
< 30g/L	33/165 (20,0)	<b>0,014</b>	0,43 (0,23-0,83)
> 30g/L	22/60 (36,7)		
<b>Težina bolesti</b>			
Teška komplikovana	8/40 (20,0)	0,551	0,75 (0,32-1,73)
Teška nekomplikovana	50/200 (25,0)		
<b>Ileus</b>			
Da	6/33 (18,2)	0,512	0,66 (0,26-1,69)
Ne	52/207 (25,1)		
<b>CDI epizoda</b>			
Prvi recidiv	20/88 (22,7)	0,756	0,88 (0,48-1,64)
Prva epizoda	38/152 (25,0)		
<b>Primena pridružene antibiotske terapije</b>			
Da	6/47 (12,8)	0,056	0,40 (0,16-0,99)
Ne	52/193 (27,0)		
Trajanje terapije	/	0,060	/
Vreme do prestanka proliva	/	0,698	/

Multivarijantnom analizom koristeći binarnu logističku regresiju primena teikoplanina pokazala se kao nezavisan faktor povezan sa manjom učestalošću recidiva CDI ( $p=0,001$ ). (Tabela 18)

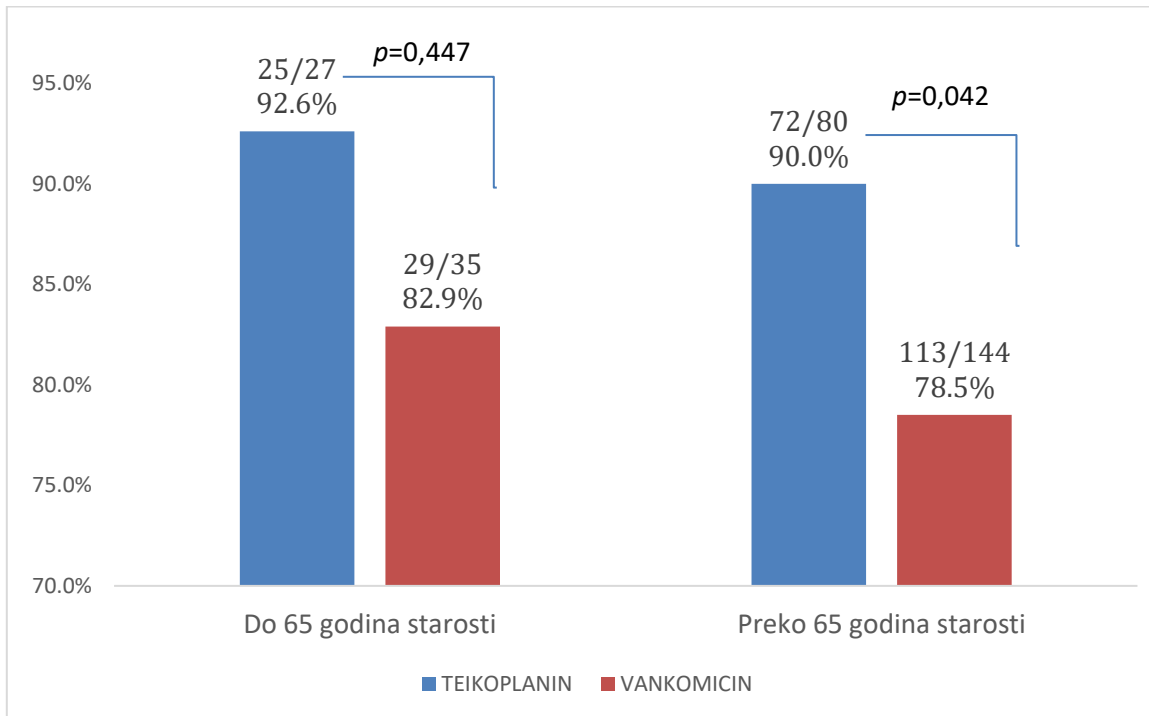
**Tabela 18. Faktori rizika za recidiv kod bolesnika sa teškom i komplikovanom CDI lečenih teikoplaninom i vankomicinom –multivarijantna analiza**

Faktor rizika	Multivarijantna analiza	
	<i>p</i>	OR (95% CI)
Godine starosti	0.720	1.01 (0.96-1.07)
Starost > 65 godina	0.364	2.01 (0.45-9.09)
Starost ≤ 65 godina		
Terapijski režim		
Teikoplanin	<b>0.001</b>	0.21 (0.09-0.52)
Vankomicin		
Broj leukocita ( $Le/mm^3$ )	0.763	1.02 (0.92-1.12)
Broj leukocita > 15 000/ $mm^3$	0.217	0.42 (0.11-1.67)
Broj leukocita ≤ 15 000/ $mm^3$		
C reaktivni protein		
> 150 mg/l	0.190	1.93 (0.72-5.13)
≤ 150 mg/l		
Serumski kreatinin		
≥1,5 puta u odnosu na nivo pre bolesti	0.400	1.62 (0.53-5.02)
<1.5 puta u odnosu na nivo pre bolesti		
Albumin		
< 30g/l	0.163	0.53 (0.22-1.30)
≥ 30g/l		
Težina bolesti		
Teška komplikovana	0.836	1.31 (0.10-16.96)
Teška nekomplikovana		
Ileus		
Da	0.934	0.89 (0.06-14.20)
Ne		
CDI epizoda		
Prvi recidiv	0.110	0.53 (0.24-1.16)
Prva epizoda		
Primena pridružene antibiotske terapije		
Da	0.475	0.62 (0.16-2.32)
Ne		
Trajanje terapije	0.324	1.09 (0.92-1.30)
Vreme do prestanka proliva	0.524	1.05 (0.90-1.24)

### **4.2.3. Ishod CDI kod posebnih grupa bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom**

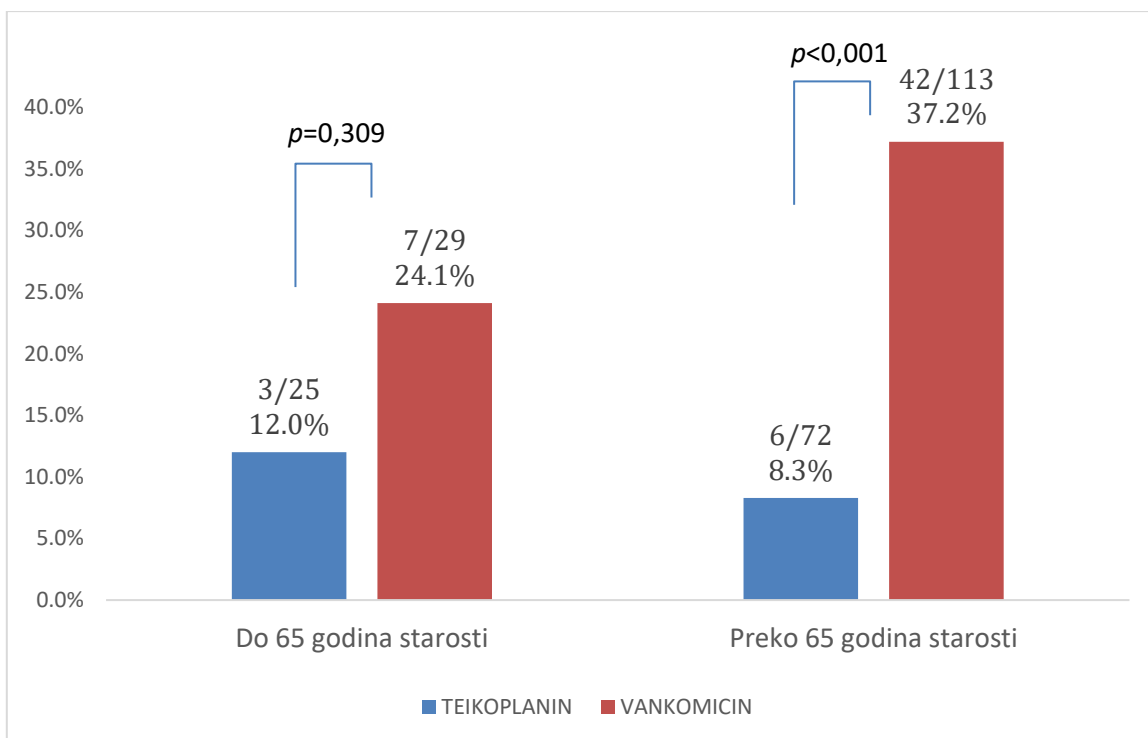
#### **4.2.3.1. Ishod CDI kod bolesnika starijih od 65 godina lečenih teikoplaninom i vankomicinom**

U grupi bolesnika starijih od 65 godina učestalost postignutog kliničkog izlečenja bila je statistički značajno veća kod bolesnika lečenih teikoplaninom u odnosu na bolesnike lečene vankomicinom ( $p=0,042$ ). (Grafikon 24)



**Grafikon 24. Učestalost izlečenja bolesti u kohortama bolesnika do 65 i starijih od 65 godina lečenih teikoplaninom i vankomicinom**

U grupi bolesnika starijih od 65 godina učestalost recidiva je bila statistički značajno manja kod bolesnika lečenih teikoplaninom u odnosu na lečene vankomicinom ( $p < 0,001$ ). (Grafikon 25)

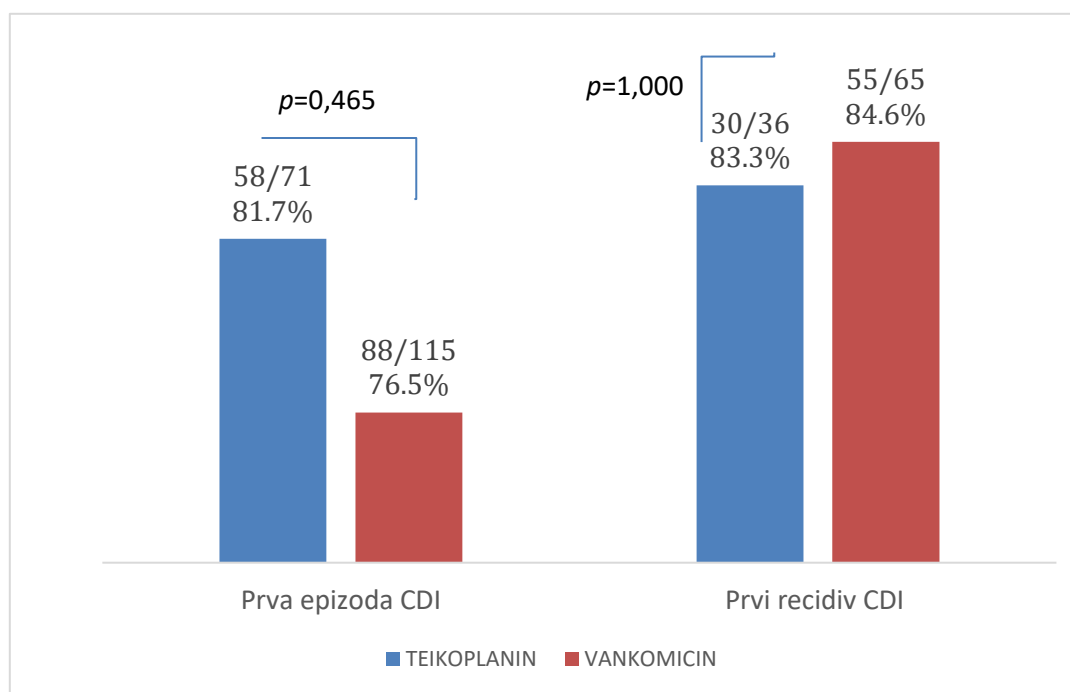


**Grafikon 25. Učestalost recidiva bolesti u kohortama bolesnika do 65 i starijih od 65 godina lečenih teikoplaninom i vankomicinom**

#### 4.2.3.2. Ishod CDI kod bolesnika sa prvim recidivom bolesti lečenih teikoplaninom i vankomicinom

U grupi bolesnika sa prvim recidivom CDI izlečenje je postignuto kod 83,3% bolesnika lečenih teikoplaninom i 84,6% bolesnika lečenih vankomicinom. (Grafikon 26).

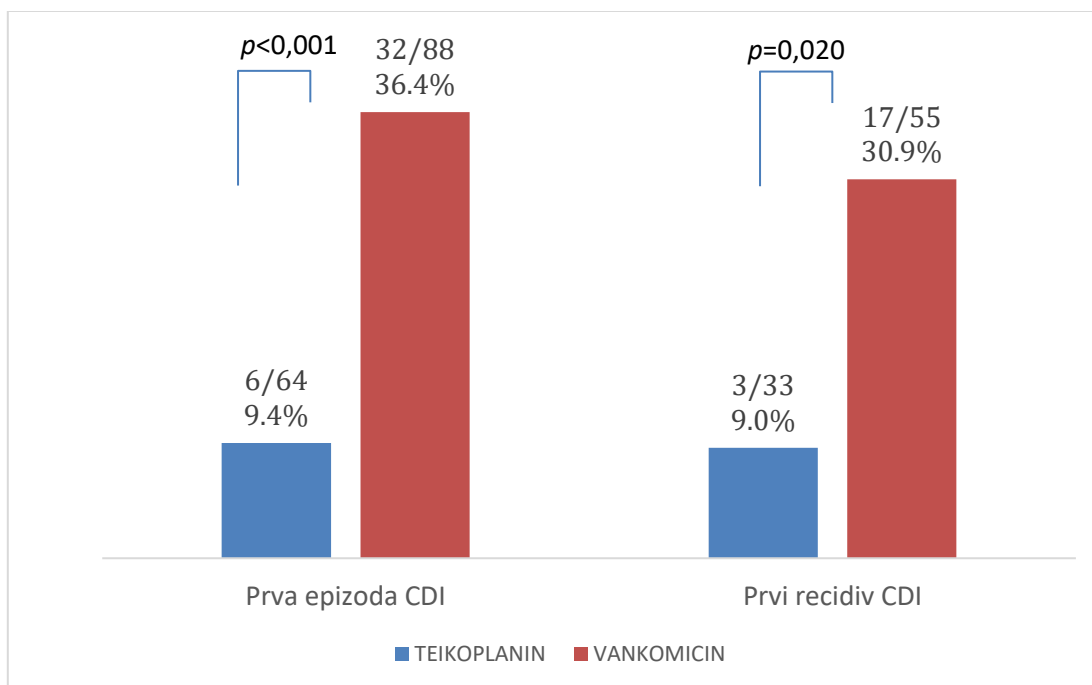
Nije bilo statistički značajne razlike u učestalosti kliničkog izlečenja između bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom ni u grupi bolesnika sa prvim recidivom niti u grupi bolesnika sa prvom epizodom CDI. (Grafikon 26)



**Grafikon 26. Učestalost kliničkog izlečenja bolesti u kohortama bolesnika sa prvom epizodom i prvim recidivom CDI lečenih teikoplaninom i vankomicinom**

Nakon 8 nedelja praćenja učestalost recidiva CDI je bila statistički značajno manja kod bolesnika koji su lečeni teikoplaninom u odnosu na bolesnike lečene vankomicinom kako u grupi bolesnika sa prvom epizodom CDI tako i kod onih sa prvim recidivom bolesti ( $p < 0,001$  i  $p = 0,020$ , respektivno). (Grafikon 27)





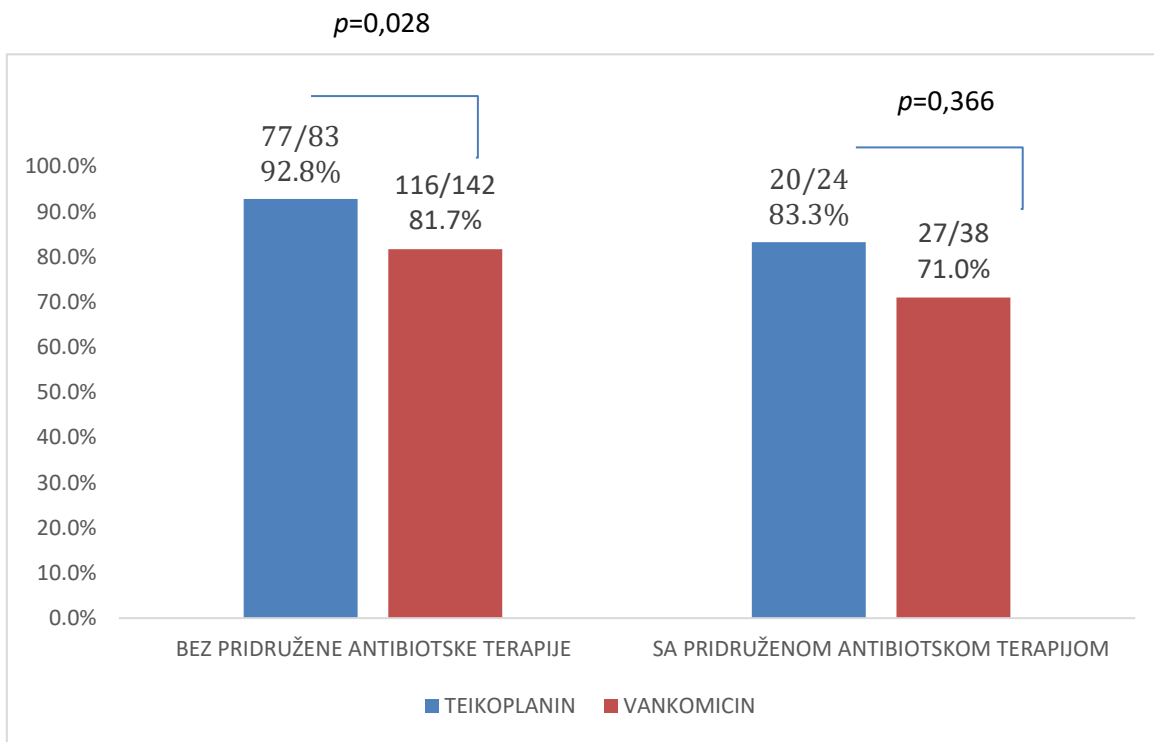
**Grafikon 27. Učestalost recidiva bolesti u kohortama bolesnika sa prvom epizodom i prvim recidivom CDI lečenih teikoplaninom i vankomicinom**

#### 4.2.3.3. Ishod CDI kod bolesnika sa pridruženom antibiotskom terapijom lečenih teikoplaninom i vankomicinom

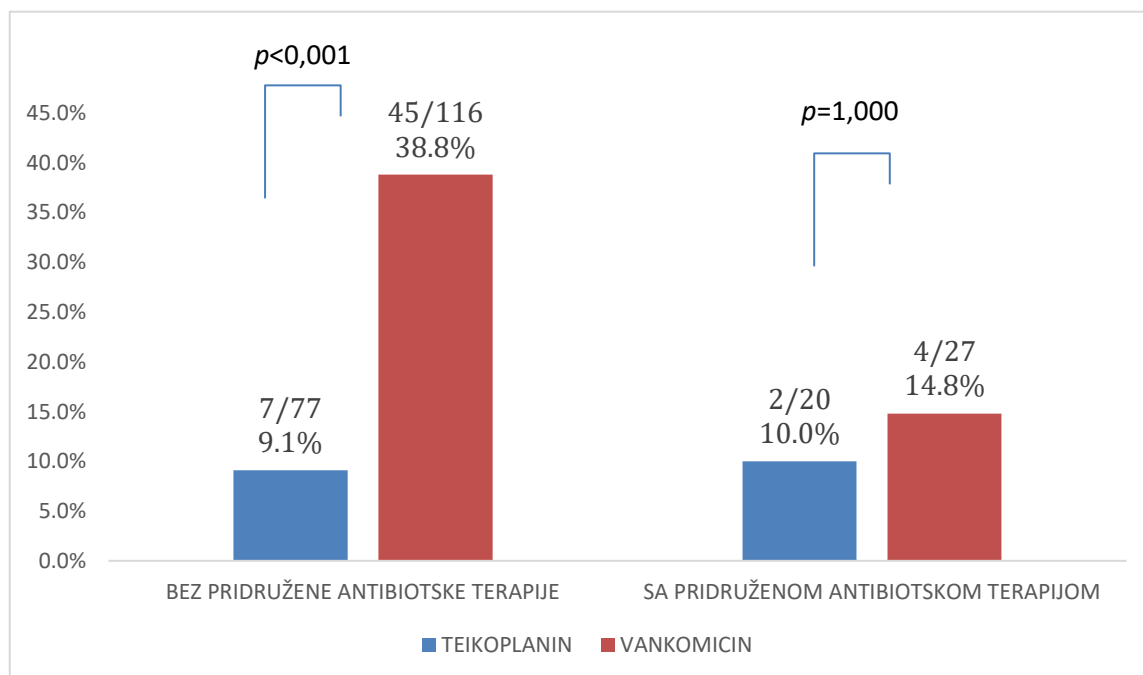
Bolesnici bez pridružene antibiotske terapije imali su veću učestalost kliničkog izlečenja bez obzira na terapijski režim. (Grafikon 28).

Nije bilo statistički značajne razlike u učestalosti kliničkog izlečenja između bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom kako u kohorti bolesnika bez, tako i onih sa pridruženom antibiotskom terapijom. (Grafikon 28)

U grupi bolesnika kod kojih nije bilo potrebe za pridruženom antibiotskom terapijom bolesnici lečeni teikoplaninom imali su statistički značajno manje recidiva bolesti od onih lečenih vankomicinom. U grupi bolesnika sa pridruženom antibiotskom terapijom nije bilo statistički značajne razlike u učestalosti recidiva u zavisnosti od terapijskog režima. (Grafikon 29)



**Grafikon 28. Učestalost kliničkog izlječenja bolesti u kohortama bolesnika sa i bez pridružene antibiotske terapije lečenih teikoplaninom i vankomicinom**



**Grafikon 29. Učestalost recidiva bolesti u kohortama bolesnika sa i bez pridružene antibiotske terapije lečenih teikoplaninom i vankomicinom**

### **4.3. TREĆI DEO ISTRAŽIVANJA**

#### **4.3.1 Primena teikoplanina u lečenju bolesnika sa refraktarnom CDI**

Tokom perioda u kome je sprovedeno istraživanje lečena su ukupno 24 bolesnika sa teškom formom CDI refraktarnom na primenu standardne terapije. Pet bolesnika je uz vankomicin *per os* i metronidazol *i.v.* prethodno primilo i vankomicin rektalno, ali je proliv perzistirao.

Prosečne godine starosti bolesnika sa refraktarnom formom CDI iznosile su  $70,4 \pm 8,8$ , pri čemu je najstariji bolesnik imao 87, a najmlađi 55 godina. Bilo je 15 (62,5%) bolesnika starijih od 65 godina, pri čemu je njih troje (12,5%) bilo starije od 80 godina. (Tabela 19)

**Tabela 19. Demografske karakteristike bolesnika sa CDI refraktarnom na primenu vankomicina sa/bez metronidazola (n=24)**

<i>Karakteristika</i>	<i>Svi bolesnici</i>
	<i>n=24</i>
<i>Muški pol</i>	15 (62,5%)
<i>Prosečna starost<math>\pm</math>SD (u godinama)</i>	70,4 $\pm$ 8,8
<i>Starost &gt;65 godina</i>	15 (62,5%)

Svi bolesnici su inicijalno, kao i u momentu započinjanja terapije teikoplaninom imali tešku i/ili komplikovanu formu CDI. Kod 22/24 (91,6%) bolesnika učinjena je fleksibilna rektosigmoidoskopija nakon 14 dana standardne terapije i kod njih 21 (95,5%) je i tada potvrđeno prisustvo pseudomembrana. Kod 10 bolesnika fleksibilna rektosigmoidoskopija je pokazala prisustvo slivenih pseudomembrana, kod 11 su viđene pojedinačne pseudomembrane, dok je kod jednog bolesnika viđena samo hiperemija sluznice.

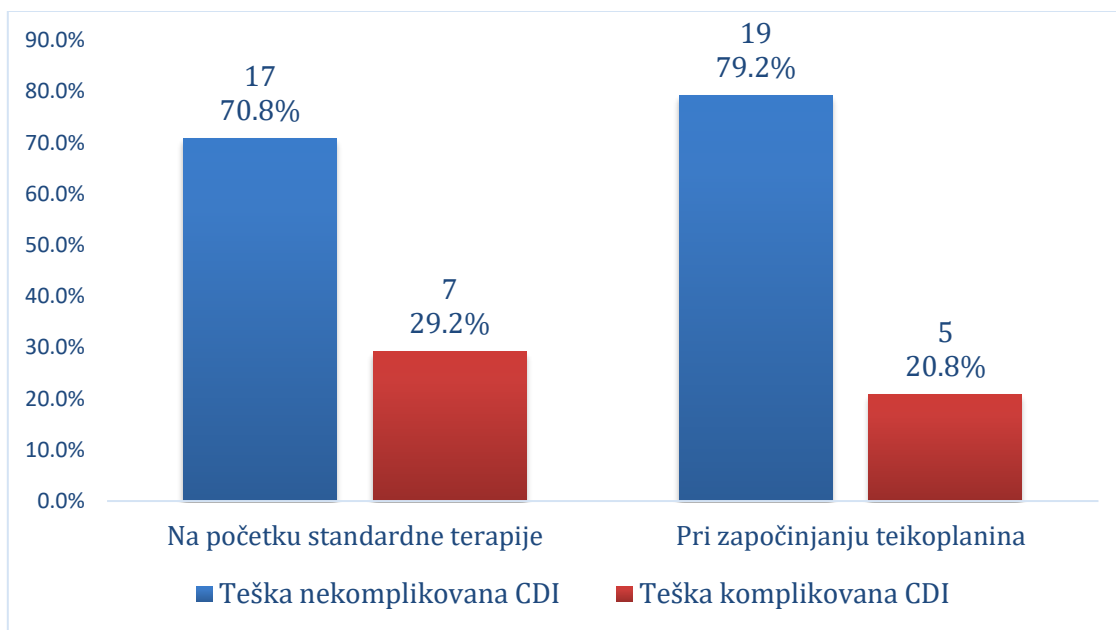
Najčešći komorbiditet bolesnika sa refraktarnom CDI bile su kardiovaskularne bolesti koje su bile prisutne kod 13 (54,2%) bolesnika, dok je prethodnu hiruršku intervenciju imalo 14 (58,3%) bolesnika. (Tabela 20)

**Tabela 20. Komorbiditet bolesnika sa refraktarnom CDI (n=24)**

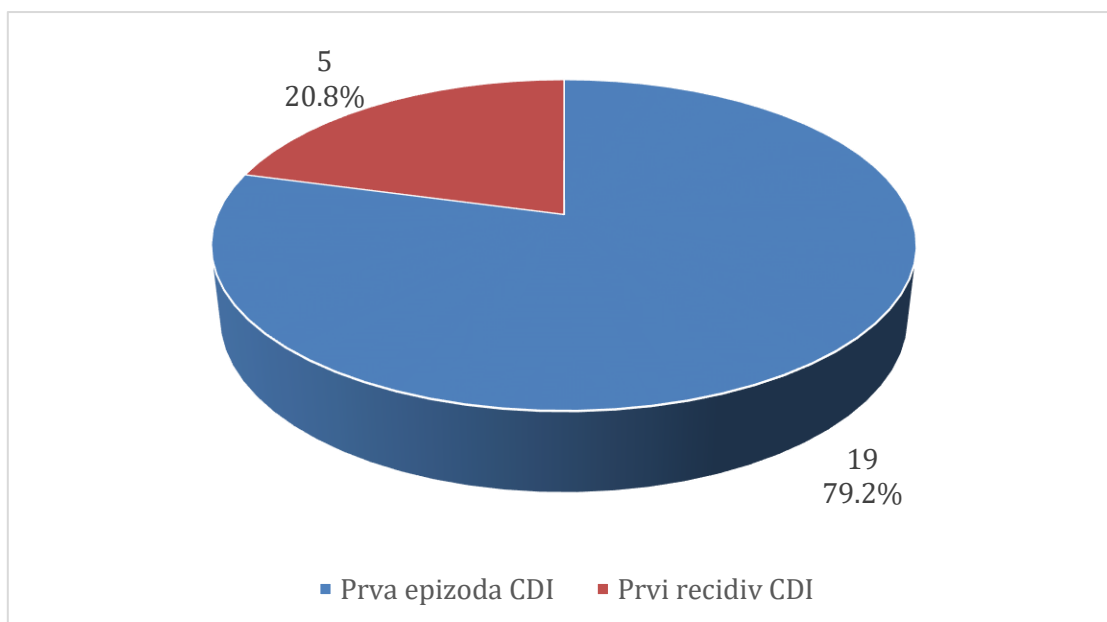
<i>Komorbiditet</i>	<i>Broj bolesnika (%)</i>
<i>Kardiovaskularne bolesti</i>	13 (54,2%)
<i>Hipertenzija</i>	7 (29,2%)
<i>Atrijalna fibrilacija</i>	4 (16,7%)
<i>Koronarna bolest</i>	10 (41,7%)
<i>Kardiomiopatija</i>	3 (12,5%)
<i>Šćerna bolest</i>	4 (16,7%)
<i>Prethodni moždani udar</i>	4 (16,7%)
<i>Maligna bolest</i>	8 (33,3%)
<i>Prethodna hirurška intervencija</i>	14 (58,3%)
<i>Hronični bronhitis</i>	2 (8,3%)
<i>Nepokretnost</i>	12 (50,0%)

Na početku inicijalne standardne terapije, od ova 24 bolesnika njih 7 (29,2%) je imalo komplikovanu formu bolesti. (Grafikon 30) U momentu započinjanja terapije teikoplaninom komplikovanu bolest imalo je 5 (20,8%) bolesnika, pri čemu dvoje od ovih 5 bolesnika nije imalo komplikovanu bolest pri prijemu, već je do pogoršanja i razvoja komplikovane forme CDI došlo tokom primene standardne terapije.

Kod 5 bolesnika (20,8%) radilo se o prvom recidivu CDI, dok se kod ostalih 19 (79,2%) radilo o prvoj epizodi CDI. (Grafikon 31).



**Grafikon 30. Distribucija bolesnika u zavisnosti od težine bolesti na početku standardne terapije i nakon 14 dana neuspešne terapije, u trenutku započinjanja teikoplanina**



**Grafikon 31. Učestalost bolesnika sa prvom epizodom i prvim recidivom CDI**

Kliničke karakteristike bolesnika sa refraktarnom formom CDI na početku kao i nakon 14 dana standardne terapije, u momentu uvođenja teikoplanina u terapiju, prikazane su na tabeli 21.

**Tabela 21. Kliničke karakteristike bolesnika sa refraktarnom CDI na početku standardne terapije i u momentu započinjanja terapije teikoplaninom**

<i>Simptomi i znaci</i>	<i>Na početku standardne terapije</i>	<i>U momentu započinjanja terapije teikoplaninom</i>
<i>Proliv</i>	24 (100%)	24 (100%)
<i>≤ 5 stolica/dan</i>	10 (41,7%)	16 (66,7%)
<i>&gt;5 stolica/dan</i>	14 (58,3%)	8 (33,3%)
<i>Sluz u stolici</i>	24 (100%)	20 (83,3%)
<i>Krv u stolici</i>	0 (0,0%)	0 (0,0%)
<i>Temperatura ≥38 °C</i>	9 (37,5%)	7 (29,2%)
<i>Bolovi u trbuhu</i>	22 (91,7%)	18 (75,0%)
<i>Palpatorna bolna osetljivost trbuha</i>	22 (91,7%)	17 (70,8%)
<i>Napet trbuh</i>	9 (37,5%)	7 (29,2%)
<i>Povraćanje</i>	3 (12,5%)	0 (0,0%)
<i>Ascites</i>	7 (29,2%)	9 (37,5%)
<i>Pleuralni izliv</i>	7 (29,2%)	10 (41,7%)
<i>Periferni edemi</i>	8 (33,3%)	10 (41,7%)
<i>Ileus</i>	4 (16,7%)	5 (20,8%) 2 ↑*
<i>Toksični megakolon</i>	1 (4,2%)	2 (8,3%) 2 ↑
<i>Hipotenzija koja zahteva primenu vazopresora</i>	3 (12,5%)	3 (12,5%) 2 ↑
<i>Akutna bubrežna insuficijencija</i>	4 (16,7%)	1 (4,2%) 1 ↑
<i>Respiratorna insuficijencija</i>	0 (0%)	1 (4,2%)
<i>Poremećaj mentalnog stanja</i>	5 (20,8%)	6 (25,0%)
<i>Pridružena infekcija i primena pridružene antibiotske terapije</i>	7 (29,2%)	8 (33,3%)

\* strelice označavaju broj bolesnika kod kojih je došlo do određenih komplikacija tokom standardne terapije

Na tabeli se uočava da je uprkos primeni standardne terapije broj bolesnika sa ascitesom, pleuralnim izlivom i perifernim edemima bio veći nakon 14 dana terapije.

Iako je primenjena standardna terapija povećao se broj bolesnika sa ileusom, toksičnim megakolonom i hipotenzijom koja je zahtevala primenu vazopresora, dok se kod jednog bolesnika razvila akutna bubrežna insuficijencija koja nije postojala pri prijemu u bolnicu. (Tabela 21)

Na tabeli 22 prikazane su laboratorijske analize bolesnika pri prijemu i nakon 14 dana standardne terapije.

**Tabela 22. Inicijalne vrednosti hematoloških i biohemijskih analiza kod bolesnika sa refraktarnom CDI nakon 14 dana standardne terapije tj. u trenutku uvođenja teikoplanina u terapiju**

<i>Laboratorijska analiza</i>	<i>Srednja vrednost ± SD</i>
<i>Broj Le</i> <i>(broj ćelija/mm<sup>3</sup>)</i>	10,9 ± 4,2
<i>Albumini (g/l)</i>	24,9 ± 3,0
<i>CRP (mg/l)</i>	74,2 ± 53,9
<i>Kreatinin (μmol/l)</i>	96,7 ± 39,1
<i>K (mmol/l)</i>	3,5 ± 0,5
<i>Na (mmol/l)</i>	138 ± 4,4
<i>Fe (mmol/l)</i>	5,3 ± 2,6
<i>d-dimer (mg/l)<sup>a</sup></i>	4,7 ± 2,7
<i>PV (izraženo u %)<sup>b</sup></i>	69,6 ± 23,2

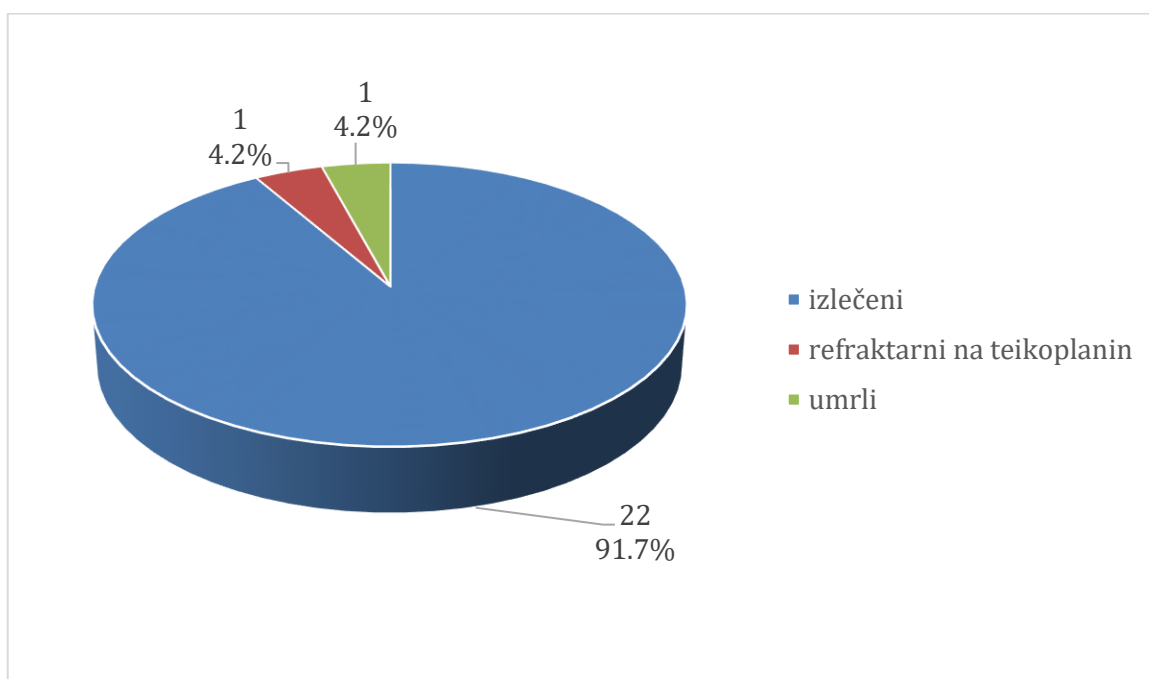
<sup>a</sup> Nisu uključene vrednosti d-dimera kod bolesnika sa prisutnim tromboembolijskim komplikacijama

<sup>b</sup> Nisu uključene vrednosti PV-a kod bolesnika koji su dobijali oralnu antikoagulantnu terapiju

Po uvođenju teikoplanina u terapiju kod svih bolesnika došlo je do izvesnog poboljšanja. Ishod lečenja refraktarne CDI primenom teikoplanina *per os* prikazan je na grafikonu 32. Kod 22/24 (91,7%) bolesnika postignuto je kliničko izlečenje.

Smrtni ishod je nastupio kod kod 1/24 (4,2%) bolesnika, ali ne kao posledica neizlečene CDI, već kao posledica urosepse izazvane bakterijom *Klebsiella Enterobacter*.

Kod 23/24 (95,8%) došlo je do prestanka proliva, uključujući i bolesnicu koja je umrla. Naime, kod ove bolesnice proliv je prestao 5. dana od uvođenja teikoplanina, a bolesnica je umrla nakon 20 dana terapije teikoplaninom.



**Grafikon 32. Ishod CDI refraktarne na standardnu terapiju nakon lečenja teikoplaninom**

Kod 1/24 (4,2%) bolesnika nije došlo do izlečenja nakon 20 dana primene teikoplanina. Kod ovog bolesnika nakon 20 dana primene teikoplanina održavali su se meteorizam i radiografski nalaz koji ukazuje na ileus, a CT pregledom abdomena opisani su znaci cecitisa-zadebljanje zida cekuma uz reakciju okolnog mezenterijuma. Ovom bolesniku ordinirani su IVIG u dozi od 0,4g/kg jednokratno. Nakon 3 dana od primene

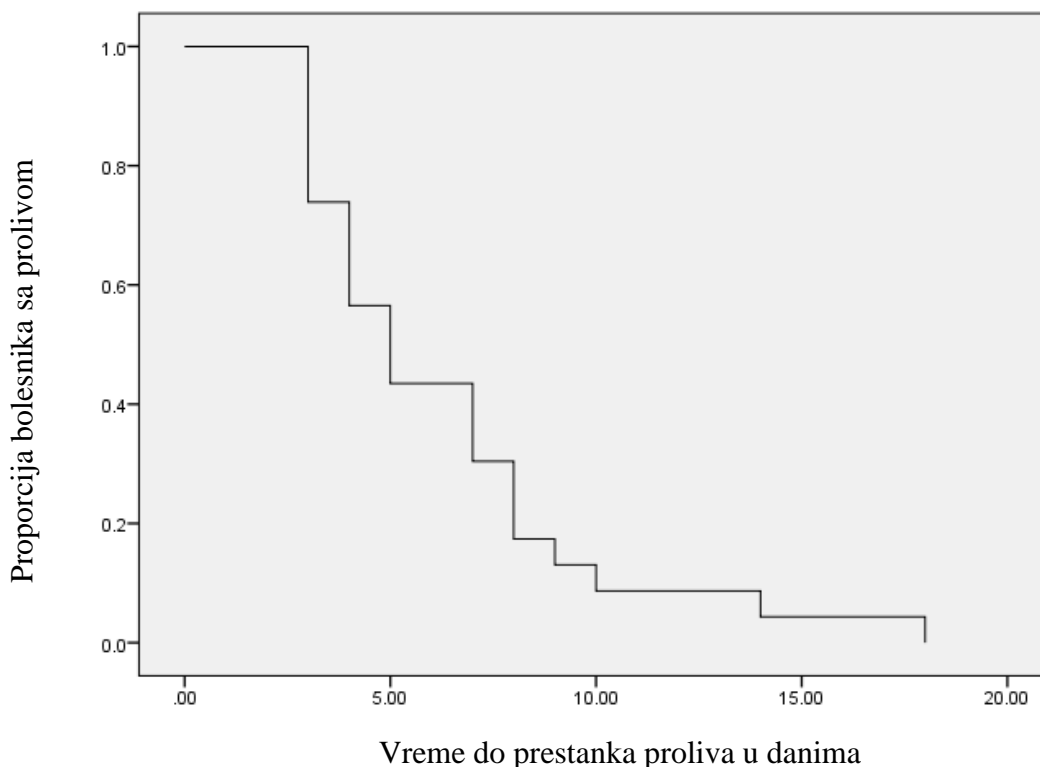


IVIG došlo je do prestanka proliva i normalizacije vrednosti zapaljenskih parametara. Tokom perioda praćenja nije došlo do pojave recidiva kod ovog bolesnika.

Prosečno trajanje terapije teikoplaninom iznosilo je  $15,4 \pm 2,6$  dana (14-21 dan). Terapiju u trajanju od 14 dana primilo je 19 bolesnika, 3 bolesnika su lečena 21 dan, jedan bolesnik 20 dana, a jedan bolesnik 17 dana.

Prosečno vreme do prestanka proliva od trenutka započinjanja terapije teikoplaninom iznosilo je  $6,3 \pm 3,8$  dana (3-18 dana), a prosečno vreme do razrešenja ileusa bilo je  $6,5 \pm 3,5$  dana (3 -10 dana).

Na grafikonu 33 prikazana je *Kaplan-Meier*-ova kriva vremena do prestanka proliva od momenta uvođenja teikoplanina u terapiju. Dan 0 je dan početka terapije teikoplaninom. Procenjena mediana vremena to prestanka proliva bila je 5 dana (95% CI 3-7 dana)



**Grafikon 33. Kaplan-Meier analiza procenjenog vremena do prestanka proliva kod bolesnika sa refraktarnom CDI nakon uvođenja teikoplanina**

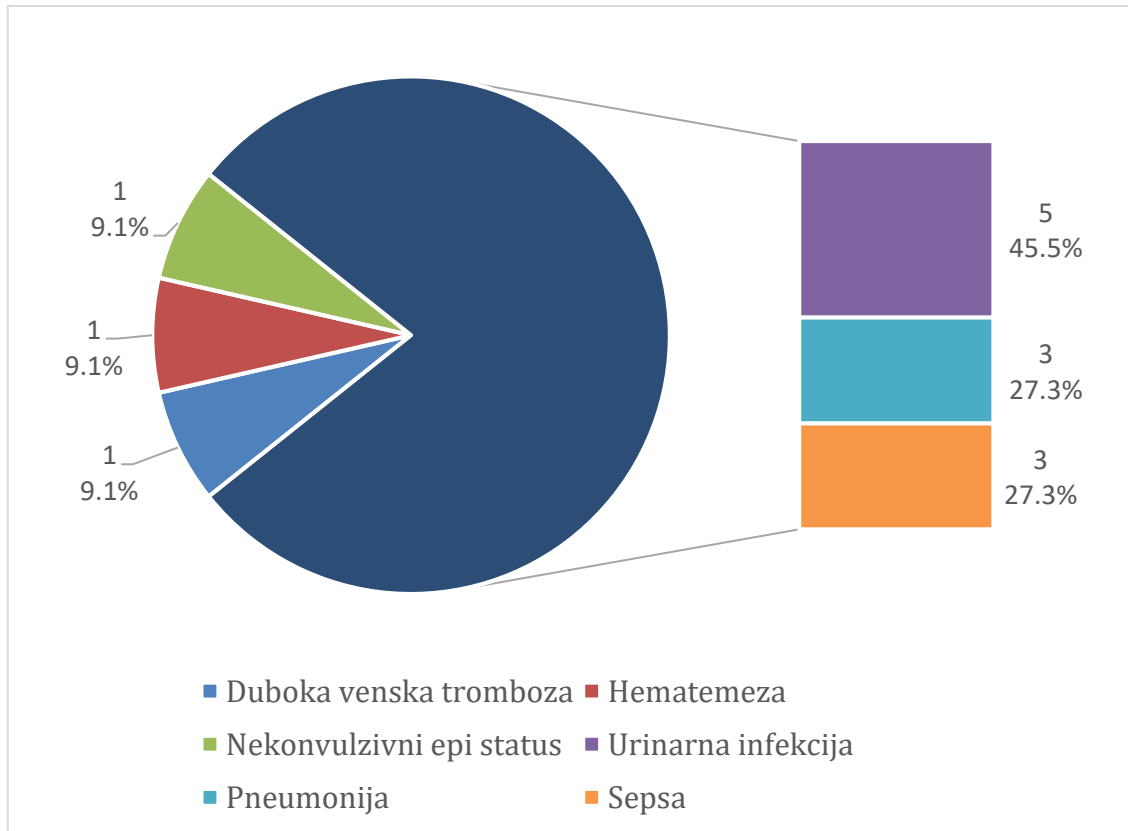
Vreme do prestanka proliva od momenta uvođenja teikoplanina u terapiju bilo je statistički značajno duže kod bolesnika sa komplikovanom formom bolesti i prisutnim ileusom ( $p=0,007$  i  $p=0,007$ , respektivno). (Tabela 23)

**Tabela 23. Analiza faktora povezanih sa duzinom trajanja proliva po uvođenju teikoplanina u terapiju**

<i>Karakteristika</i>	<i>Broj bolesnika</i>	<i>Vreme do prestanka proliva u danima</i> (srednja vrednost $\pm$ SD)	<i>p</i>
<i>Starost &gt; 65 godina</i>	15	7,0 $\pm$ 4,4	0,285
<i>Starost <math>\leq</math> 65 godina</i>	9	6,5 $\pm$ 2,4	
<i>Prisustvo ileusa</i>	5	10,8 $\pm$ 6,6	<b>0,007</b>
<i>Bez ileusa</i>	19	5,4 $\pm$ 2,3	
<i>Teška komplikovana CDI</i>	5	10,8 $\pm$ 6,6	<b>0,007</b>
<i>Teška nekomplikovana CDI</i>	19	5,4 $\pm$ 2,3	
<i>Sa pridruženom antibiotskom terapijom</i>	8	7,0 $\pm$ 3,7	0,535
<i>Bez pridružene antibiotske terapije</i>	15	5,9 $\pm$ 3,9	

Najčešće komplikacije tokom lečenja refraktarne CDI bile su druge bolničke infekcije koje je imalo 8 (33,3%) bolesnika, pri čemu je najčešća bila urinarna infekcija prisutna kod 5 (20,8%) bolesnika.

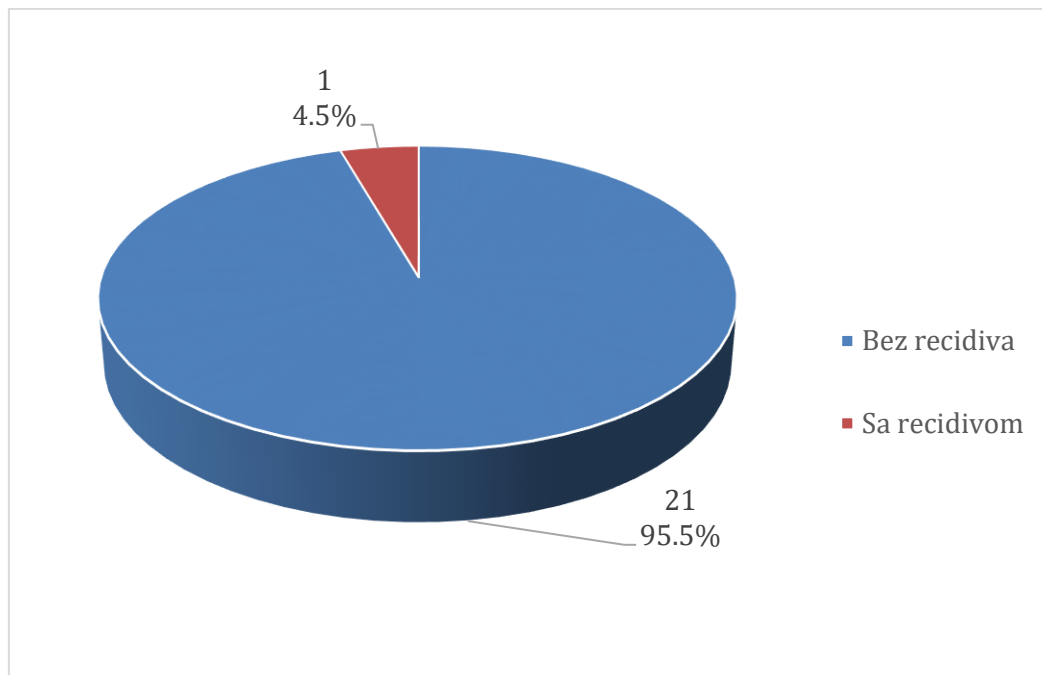
Kod jedne bolesnice kao komplikacija nastala tokom bolničkog lečenja došlo je do razvoja nekonvulzivnog epi statusa zbog nedostatka vitamina B. (Grafikon 34)



**Grafikon 34. Komplikacije tokom bolničkog lečenja bolesnika sa refraktarnom CDI**

Tokom perioda praćenja od 8 nedelja recidiv je nastupio kod samo 1/22 (4,5%) bolesnika. (Grafikon 35)

Recidiv je nastupio nakon 7 dana od završetka terapije teikoplaninom.



**Grafikon 35. Učestalost recidiva CDI kod bolesnika sa refraktarnom CDI lečenih teikoplaninom nakon 8 nedelja praćenja**

## 5. DISKUSIJA

Tokom poslednjih 15 godina učestalost CDI je u značajnom porastu širom sveta, pri čemu sve veći broj bolesnika ima tešku formu bolesti sa čestom pojavom recidiva. Kao razlog veće učestalosti CDI, težih oblika bolesti i sve češće pojave slučajeva refraktarnih na standardnu terapiju izdvaja se pojava novog, hipervirulentnog soja *C. difficile*, ribotipa NAP1/BI/027.

CDI se češće javlja kod starijih bolesnika i onih sa brojnim komorbiditetima (84). U SAD čak 92% svih prijema u bolnicu zbog CDI čine bolesnici stariji od 65 godina, a čak 93% smrtnih ishoda od CDI dogodilo se upravo u ovoj starosnoj kategoriji (218). Američki autori su takođe pokazali da za svaku godinu starosti preko 18 godina rizik bolnički stečene CDI raste za 2%, kao i da je učestalost hospitalizacija zbog CDI četiri odnosno 10 puta veća kod bolesnika starosti od 65-84 godine i 85 i više godina, u odnosu na pacijente starosti od 45-64 godine (9,218). Prosečan uzrast bolesnika u našem istraživanju bio je  $73,5 \pm 10,6$  godina, pri čemu je čak 78% bilo starije od 65 godina. Skoro trećina bolesnika (28,9%) bila je starija od 80 godina, a najstariji bolesnik je imao 96 godina. Važno je napomenuti da nije bilo statistički značajne razlike u godinama starosti i udelu bolesnika starijih od 65 godina između bolesnika lečenih vankomicinom i teikoplaninom, što je značajno zbog mogućeg uticaja starosti na ishod lečenja.

Stariji bolesnici češće oboljevaju od CDI zbog češćih prijema u bolnicu usled različitih pridruženih bolesti, češćih infekcija koje zahtevaju primenu antibiotske terapije, boravka u staračkim domovima koji takođe predstavljaju izvor *C. difficile*, kao i zbog imunodeficijencije kao posledice starosti (65,77,109,219-222). U osnovi imunodeficijencije starih osoba je smanjen broj T i B limfocita kao i poremećaj njihove funkcije (222,223). Takođe, starenjem se narušavaju prirodne urođene barijere za infekciju te tako npr. postoji veća sklonost ka urinarnim infekcijama usled promena u genitourinarnom traktu (214). Sa starenjem se smanjuje i raznovrsnost crevne mikrobiote što takođe doprinosi nastanku CDI (59).

Stariji bolesnici ne samo da češće oboljevaju od CDI već imaju i težu kliničku sliku bolesti i češći nepovoljan ishod, a loše funkcionalno stanje kod ovih bolesnika prepoznato je kao važan i nezavisan faktor rizika za loš ishod bolesti (224,225). Koristeći se procenom aktivnosti u svakodnevnom životu pre hospitalizacije, *Rao* i saradnici su pokazali da je loš funkcionalni status nezavisan faktor rizika za razvoj teške forme CDI kod bolesnika starijih od 50 godina (225). U našem istraživanju funkcionalno stanje bolesnika smo prikazali kroz sposobnost samostalnog kretanja. Među analiziranim bolesnicima sa teškom i komplikovanom CDI nešto manje od polovine (41,8%) je bilo samostalno nepokretno.

Grupa italijanskih autora je pokazala da je prisustvo više pridruženih bolesti nezavisan prediktor razvoja CDI (226). Takođe, i istraživanje sprovedeno u Grčkoj pokazalo je da je prisustvo komorbiditeta izraženo *Charlson* komorbiditet indeksom većim od 6 povezano sa razvojem CDI (227). U našem istraživanju najčešće pridružene bolesti bile su kardiovaskularne bolesti, od kojih je najzastupljenija bila hipertenzija prisutna kod 64,1% bolesnika. Značajan broj bolesnika, njih 21,6%, je imalo prethodni moždani udar, dok je 22% imalo šećernu bolest. Slične pridružene bolesti imali su i bolesnici sa CDI u studiji *Rao* i saradnika (225). Kod ovih bolesnika dijabetes je bio prisutan kod 31,1% bolesnika, srčana slabost kod 25,6%, maligna bolest kod čak 55,6% dok je prethodni moždani udar imalo 25,6% bolesnika (225). U studiji *Moshkowitz*-a i saradnika 50% bolesnika imalo je hipertenziju, 45,8% koronarnu bolest, a 33,3% prethodni moždani udar (228). U našem istraživanju bolesnici lečeni vankomicinom imali su statistički značajno češće kardiomiopatiju i hroničnu opstruktivnu bolest pluća, dok nije bilo statistički značajne razlike u učestalosti ostalih pridruženih bolesti.

Prethodnu abdominalnu hiruršku intervenciju imalo je 20 (7,0%) bolesnika. Abdominalna hirurgija se smatra faktorom rizika za nastanak CDI. Učestalost postoperativne CDI prema različitim istraživanjima iznosi od 0,2% do 8,4% u zavisnosti od analizirane populacije i vrste operacije (229-232). Neadekvatna antibiotska profilaksa u hirurgiji u smislu produžene primene i neodgovarajućeg izbora antibiotika, je najčešće povezana sa većim rizikom za CDI te je u preoperativnoj profilaksi potrebno izbegavati

primenu visokorizičnih antibiotika poput fluorohinolona i cefalosporina treće generacije (233).

Najveći broj bolesnika u našem istraživanju, 272 (94,8%), prethodno su bili bolnički lečeni. *C. difficile* je ubikvitarna bakterija, ali dominantno prisutna u bolničkoj sredini, veoma otporna na uslove spoljašnje sredine, a njeno širenje odvija se najčešće preko ruku zdravstvenih radnika, instrumenata, pribora za negu bolesnika i upotrebom toaleta. Bolesnici koji su nepokretni, a koji su činili 41,8% analizirane populacije u ovoj studiji, su u većem riziku jer su zavisni od tuđe nege.

Devet bolesnika (3,1%) lečeno je u staračkim domovima od neke druge infekcije pre razvoja CDI. Prema različitim istraživanjima učestalost asimptomatske kolonizacije *C. difficile* kod štićenika staračkih domova kreće se od 5% do čak 51%, što je značajno više od 1 - 3% koliki je procenat kolonizacije u opštoj populaciji, a pojedine studije su pokazale i da je učestalost kolonizacije kod štićenika staračkih domova veća čak i od one kod hospitalizovanih bolesnika (234-239). Velika zastupljenost asimptomatskog nosilaštva u ovoj populaciji posledica je lakog širenja spora u takvim ustanovama. Brojni pacijenti nakon bolničkog lečenja odlaze upravo u staračke domove, doprinoseći tako unošenju *C. difficile* u ove ustanove. Takođe, s obzirom na to da skoro 80% korisnika staračkih domova zahtevaju tuđu pomoć u većini aktivnosti iz svakodnevnog života, rizik za širenje spora sa ruku osoblja je veći (240). Velika stopa asimptomatske kolonizacije takođe je razlog i za veliku učestalost CDI koja nije povezana sa prethodnim boravkom u bolnici, a koja iznosi čak 40-50% u ovoj populaciji (241, 242). Razlog za čestu CDI u staračkim domovima je i primena antibiotika koja je prema podacima iz literature u čak 25 – 75% slučajeva bila nepotrebna ili je izbor antibiotika bio neadekvatan (243, 244). Antibiotici su najčešće neadekvatno primenjivani u lečenju urinarnih infekcija (245). S obzirom na sve navedeno, u cilju smanjenja CDI u staračkim domovima, ali i van njih, potrebno je racionalno primenjivati antibiotike, a ukoliko je antibiotska terapija zaista neophodna, birati antibiotike koji nose najmanji rizik za razvoj CDI. Osim u staračkim domovima, *C. difficile* je rasprostranjen i u ustanovama za rehabilitaciju (218). U našem istraživanju 11,8% bolesnika bilo je na rehabilitaciji u vreme pojave CDI.

Najčešći razlog prijema u bolnicu koji je prethodio pojavi CDI bile su različite infekcije, što je povezano sa primenom antibiotske terapije. Bolesnici su bili lečeni u različitim ustanovama, u svim kliničko-bolničkim centrima u Beogradu, Kliničkom centru Srbije i već pomenutim ustanovama za rehabilitaciju.

Prema uspostavljenim kriterijumima, u istraživanje su uključeni bolesnici sa prvom epizodom i prvim recidivom CDI. Kod 36,1% bolesnika lečenih vankomicinom i 33,6% lečenih teikoplaninom radilo se o prvom recidivu CDI. Ovako visok udeo ove kategorije bolesnika u analiziranoj populaciji može se objasniti time što se simptomi CDI vrlo često javljaju još tokom bolničkog lečenja u ustanovi u kojoj su se i zarazili te se prva epizoda CDI tamo i zbrinjava, a u Kliniku za infektivne i tropske bolesti KCS hospitalizuju se kada dođe do ponovne pojave proliva nakon otpusta iz bolnice. Važno je napomenuti da nije bilo statistički značajne razlike u zastupljenosti bolesnika sa prvim recidivom CDI između dve terapijske grupe. S obzirom na to da je ponovna pojava CDI češća nakon prvog recidiva nego nakon prve epizode bolesti, postojanje značajne razlike u udelu bolesnika sa prvim recidivom moglo bi uticati na ishod bolesti nakon 8 nedelja praćenja što bi narušilo validnost analize uticaja terapijskog režima na učestalost recidiva.

Kada je reč o klasifikaciji prema težini bolesti, od ukupnog broja bolesnika njih 222 (77,4%) je imalo tešku nekomplikovanu, a 65 (22,6%) komplikovanu formu CDI. Učestalost komplikovane forme bolesti prema podacima iz literature porastao je poslednjih decenija sa 7,1% koliko je beleženo u istraživanju iz 1991. godine pa do 18,2% prema podacima iz 2003. što je slično učestalosti komplikovane forme u našem istraživanju (246, 247). Nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike u distribuciji bolesnika prema težini bolesti između dve terapijske grupe.

Iako komplikovana CDI predstavlja značajan problem u svakodnevnom kliničkom radu, mali je broj istraživanja i podataka u literaturi koji se tiču lečenja i ishoda bolesti u ovoj grupi bolesnika. Prema nama dostupnim podacima iz literature, ovo je jedno od istraživanja koje je prikazalo najveći broj bolesnika sa komplikovanom CDI, a svakako jedino istraživanje kojim je analizirana efikasnost teikoplanina u lečenju komplikovane forme bolesti.



S obzirom na to da je proliv kriterijum za postavljanje dijagnoze CDI, bio je prisutan kod svih analiziranih bolesnika. Bolesnici su najčešće imali između 6 i 10 stolica dnevno, a čak 89,2% bolesnika imalo je sluzave stolice, što predstavlja odliku kolitisa. Kako su u studiju uključeni upravo bolesnici sa teškim i komplikovanim oblikom bolesti očekivano je da kod svih bolesnika postoji kolitis. Krv u stolici bila je prisutna samo kod 1% bolesnika. U istraživanju *Moshkowitz*-a i saradnika krv u stolici imalo je 8,3% bolesnika (228). Činjenica da su iz našeg istraživanja isključeni bolesnici sa pridruženim bolestima creva može objasniti ovako mali procenat bolesnika sa ovim simptomom, s obzirom na to da krvave stolice i nisu karakteristične za CDI.

Čak 81,9% bolesnika imalo je bol u trbuhu, dok je 11,1% povraćalo. U izraelskoj studiji povraćanje je bilo prisutno takođe kod malog procenta bolesnika, njih 12,5% (228). Retka zastupljenost povraćanja je očekivana, s obzirom na to da povraćanje nije simptom karakterističan za CDI i može se javiti u slučaju pojave komplikacija u vidu ileusa ili usled nekog drugog pridruženog razloga poput gastritisa, ulkusne bolesti želuca ili dvanaestopalačnog creva. Povišenu temperaturu imala je skoro polovina bolesnika (48,4%), što je nešto veći procenat od onog opisivanog u literaturi (228, 248). Ovakav rezultat bi se ponovo mogao objasniti činjenicom da su u istraživanje uključeni samo bolesnici sa teškom i komplikovanom formom CDI, a povišena temperatura i jeste jedan od kriterijuma za tešku bolest. U istraživanju španskih, odnosno izraelskih autora, 55,8% odnosno 29,2% bolesnika je imalo bol u trbuhu, dok je povišenu temperaturu imalo 34,9% i 39% bolesnika (228, 248). Bolesnici su u proseku imali 4,8 stolica dnevno (247).

U našem istraživanju ascites, pleuralni izliv i periferni edemi bili su prisutni u 16,4%, 24,4% i 27,5% bolesnika i nastali su najčešće kao posledica hipoalbuminemije, mada se mala količina slobodne tečnosti u abdomenu, naročito interintestinalno, može pojaviti i kao posledica inflamacije zida creva. Velika učestalost ascitesa u ovom istraživanju, značajno veća nego u istraživanju izraelskih autora gde je bio prisutan kod samo 1,4% bolesnika, može se objasniti činjenicom da su svi analizirani bolesnici imali upravo tešku formu bolesti, pri čemu je njih 142 tj. 49,5% imalo endoskopski verifikovan pseudomembranozni kolitis (228).

Kod svih bolesnika kod kojih je rađena endoskopija rađena je upravo fleksibilna rektosigmoidoskopija i kod 142 od 144 bolesnika viđene su pseudomembrane. Ovo još jednom potvrđuje stav da u cilju postavljanja dijagnoze pseudomembranoznog kolitisa nije neophodna totalna kolonoskopija, već je dovoljna samo rektosigmoidoskopija, koja nosi manji rizik od eventualne perforacije kolona. Indikacije za endoskopski pregled (rektosigmoidoskopiju ili kolonoskopiju) kod ovih bolesnika jesu postojanje značajne kliničke sumnje na CDI uprkos negativnim laboratorijskim pregledima stolice, potreba za brzim postavljanjem dijagnoze pre nego što se mogu dobiti rezultati pregleda stolice, odsustvo odgovora na primenu standardne terapije kod laboratorijski dokazane infekcije kao i atipična prezentacija bolesti u vidu ileusa i akutnog abdomena u odsustvu proлива (249). U samo oko 10% slučajeva pseudomembranoznog kolitisa može se raditi o izolovanom kolitisu desnog hemikolona kada rektosigmoidoskopija nije dovoljna za postavljanje dijagnoze (250). U ovakvim slučajevima kod kojih postoji klinička sumnja i faktori rizika, a rektosigmoidoskopija ili učinjene mikrobiološke analize ne potvrde dijagnozu *C. difficile* kolitisa, može se uraditi i CT abdomena te u slučaju da se ovim pregledom uoči zadebljali zid desnog hemikolona može se indirektno ipak zaključiti da se kod datog bolesnika radi o pseudomembranoznom kolitisu. Zadebljali zid creva može se uočiti i ehosonografskim pregledom abdomena što je bio slučaj kod 27,3% bolesnika u ovom istraživanju, ali je CT svakako pouzdanija i manje subjektivna metoda.

Kada je reč o kliničkim karakteristikama komplikovane forme bolesti, paralički ileus je bio prisutan kod 52 (18,1%) bolesnika, pri čemu nije bilo statistički značajne razlike u učestalosti ileusa između bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom. Toksični megakolon imalo je 8 (2,8%) bolesnika i to 4 (3,7%) lečena teikoplaninom i 4 (2,2%) lečena vankomicinom. Toksični megakolon je poznata komplikacija CDI i prvi put je opisan 1950. godine od strane *Marshak*-a i saradnika (251). Prema različitim istraživanjima toksični megakolon se javlja kod 0,4%-3% bolesnika sa CDI, što je u skladu sa dobijenim procentom u ovom istraživanju (253, 253). Toksični megakolon nastaje kao posledica širenja zapaljenskih promena u *lamina muscularis* što dovodi i do oštećenja inervacije zida creva, poremećenog motiliteta i dilatacije kolona (253).

Tokom hospitalizacije kod 6 bolesnika je bilo neophodno primeniti vazopresore usled postojanja hipotenzije, što čini 9,2% svih bolesnika sa komplikovanom CDI. Jedan bolesnik je imao respiratornu, a 41 (14,3%) bubrežnu insuficijenciju. U istraživanju sprovedenom na bolesnicima lečenim u Jedinicama intenzivne nege šok i multiorganska disfunkcija bile su prisutne kod 42,8% bolesnika (254). Manji procenat bolesnika sa šoknim stanjem i organskom disfunkcijom u našem istraživanju može se objasniti činjenicom da u analizu nisu uključeni bolesnici koji su već pri prijemu bili neposredno životno ugroženi.

Prosečan broj leukocita pri prijemu kod ukupnog broja bolesnika iznosio je  $15800 \pm 8200/\text{mm}^3$ . Većina bolesnika, njih 135 (47,0%) imalo je leukocitozu preko  $15000 \text{ Le}/\text{mm}^3$ , a preko  $30000 \text{ Le}/\text{mm}^3$  imalo je 14 (4,9%) bolesnika. Jedan bolesnik lečen teikoplaninom imao je čak  $82000 \text{ Le}/\text{mm}^3$ . Precizan mehanizam nastanka leukemoidne reakcije kod bolesnika sa *C. difficile* kolitisom nije definitivno razjašnjen, ali može biti povezan sa značajnim sistemskim inflamatornim odgovorom koji dovodi do stimulacije kostne srži. Sistemska inflamatorna stanja kao što je i CDI, povezana su sa povećanim vrednostima G-CSF („*Granulocyte Colony Stimulating Factor*“) što za posledicu ima leukocitozu (255, 256).

Iako je većina bolesnika imala preko  $15000 \text{ Le}/\text{mm}^3$  u istraživanju je bilo bolesnika sa manje od  $15000 \text{ Le}/\text{mm}^3$  pa čak i manje od  $10\ 000 \text{ Le}/\text{mm}^3$  koji su imali tešku formu bolesti. S obzirom na to da leukocitoza preko  $15000 \text{ Le}/\text{mm}^3$  jeste jedan od, ali ne i neophodan kriterijum za tešku bolest, bolesnike sa manje od  $15000 \text{ Le}/\text{mm}^3$  ne treba uvek shvatati kao bolesnike sa lakom ili umerenom formom bolesti, već treba razmotriti i prisustvo drugih kriterijuma poput hipoalbuminemije, povišenih vrednosti kreatinina i povišene telesne temperature. Postojanje sluzavih stolica takođe predstavlja znak kolitisa te sve bolesnike sa sluzavim stolicama treba lečiti kao bolesnike sa teškom formom bolesti, nezavisno od broja leukocita.

Bolesnici lečeni vankomicinom imali su veći prosečan broj leukocita u odnosu na bolesnike lečene teikoplaninom, ali bez statistički značajne razlike. Takođe, nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike ni u procentu bolesnika sa inicijalnim brojem

leukocita preko 15000/mm<sup>3</sup> i preko 30000/mm<sup>3</sup> između bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom.

Prosečna vrednost albumina u ovom istraživanju bila je 26,4±4,7 g/l. Značajan deo bolesnika, njih 82,5% imalo je hipoalbuminemiju ≤ 30 g/l, pri čemu je najveći broj (72,4%) imao vrednosti albumina između 21-30 g/l. Snižen nivo albumina posledica je gubitka proteina usled inflamacije zida creva i opisan je i u drugim istraživanjima (228, 257). Sličan rezultat zabeležen je i u istraživanju *Moshkowitz*-a i saradnika gde je vrednost albumina od 20 do 29g/l imalo 56,3% bolesnika, a manje od 20g/l 1,4% bolesnika (228). U istraživanju *Lihua* i saradnika prosečne vrednosti albumina su bile nešto veće, 29 g/l, što je posledica toga što su u to istraživanje uključeni i bolesnici sa lakom i umereno teškom formom bolesti (257). U istom istraživanju prosečan broj leukocita bio je, iz istog razloga, manji nego u našem istraživanju, dok je samo 9,6% bolesnika imalo leukocitozu preko 15000/mm<sup>3</sup> (257). Nasuprot ovom istraživanju, u izraelskoj studiji vrednosti leukocita su bile nalik našim rezultatima pri čemu je leukocite preko 20000/mm<sup>3</sup> imalo 37,5% bolesnika (228). U istraživanju na bolesnicima hospitalizovanim u Jedinicama intenzivne nege prosečne vrednosti albumina bile su slične rezultatima u našem istraživanju, 26,1 ± 3,3 g/l, što je i očekivano jer su bolesnici koji zahtevaju lečenje u Jedinicama intenzivne nege isključivo bolesnici sa teškom formom CDI (254).

Kada je reč o ostalim značajnim biohemijskim parametrima, analizirani bolesnici imali su povišene prosečne vrednosti CRP-a i d-dimera, kao i snižene vrednosti kalijuma i gvožđa. Zanimljivo je istaći da je najveća zabeležena vrednost d-dimera bila čak 34 mg/l, pri čemu su vrednosti d-dimera bolesnika koji su imali dokazanu neku od tromboembolijskih komplikacija bile isključene iz analize. Snižene vrednosti gvoždja posledica su povećane ekspresije hepcidina u inflamaciji nastale pod dejstvom IL-6 (259). Hepcidin je peptid koji se sintetiše u jetri i služi kao regulator homeostaze gvožđa (259, 260). Hepcidin direktno inhibira ferroportin, protein koji transportuje gvožđe iz ćelija koje ga deponuju te njegov porast dovodi do smanjene vrednosti nivoa serumskog gvožđa (260). Produženo protrombinsko vreme u okviru CDI nastaje kao posledica nedostatka vitamina K usled smanjene produkcije u crevima zbog narušene crevne mikrobiote (261).

Rezultati ribotipizacije pokazali su ubedljivu dominaciju ribotipa 027 u populaciji naših bolesnika. Kod 43 od 45 (95,6%) pacijenata koliko je analizirano, dokazan je ribotip 027, dok je kod po jednog bolesnika izolovan ribotip 001/072 i ribotip 014/020. Istraživanje *Rupnik* i saradnika sprovedeno od 2008-2015. godine na uzorcima iz nekoliko zemalja jugoistočne Evrope, već je pokazalo dominaciju ribotipa 027 u Srbiji i Bosni i Hercegovini, mada ne u tolikom procentu (262). Naime, ribotip 027 u navedenoj studiji bio je izolovan u 65,8% slučajeva u Srbiji i Bosni i Hercegovini (262). Ostala tri dominantna soja bili su 176 (18 izolata u Hrvatskoj), 001/072 (15 izolata u svim zemljama koje su učestvovala) i 014/020 (takođe 15 izolata u svim analiziranim zemljama) (262). Ista distribucija dominantnih sojeva *C. difficile* kao u našem istraživanju rezultat je i velike EUCLID studije sprovedene u Evropi tokom 2012. i 2013. godine (94). U tom istraživanju ribotip 027 bio je izolovan u 19% slučajeva, dok su ribotip 001/072 i 014/020 bili izolovani u 11% i 10% izolata (94).

U istraživanju sprovedenom u petogodišnjem periodu u severnoj Italiji takođe je utvrđena dominacija ribotipa 027 koji je bio zastupljen u 38% slučajeva (263). Ostali značajni ribotipovi bili su ribotip 018 i 607 (263). U odnosu na prethodno istraživanje sprovedeno u istoj regiji, ovo istraživanje je pokazalo porast učestalosti ribotipa 027 i opadanje zastupljenosti ribotipa 018 (263). Ribotip 027 bio je dominantan i u Poljskoj zajedno sa ribotipom 176 koji je uz ribotip 225 bio najviše zastupljen u Češkoj (264,265). U studiji sprovedenoj u Nemačkoj utvrđeno je da je dominantan ribotip bio 001, prisutan u 31,8% uzoraka, a na drugom mestu je bio ribotip 027 čija je učestalost porasla sa 21,4% u 2011. na 30,0% u 2013 (266). Kada je reč o analizi sprovedenoj u Velikoj Britaniji ribotip 027 izolovan je u 22% slučajeva u starosnoj kategoriji od 18 do 64 godine, dok je učestalost ovog soja opala među starijima od 65 godina u odnosu na ranija istraživanja koja su tamo sprovedena (47, 87). U istraživanju sprovedenom u Kanadi u kome je poređena zastupljenost različitih ribotipova u preepidemijskoj i epidemijskoj eri pokazan je jasan porast učestalosti ribotipa 027 u epidemijskoj eri (267).

Dominacija ribotipa 027 u našoj populaciji može se smatrati posledicom prekomerne, vrlo često neopravdane primene antibiotika iz grupe fluorohinolona, s obzirom na to da ovaj ribotip karakteriše rezistencija na navedenu grupu antibiotika (23).

Upravo nadzor nad primenom svih antibiotika, a posebno fluorohinolona u Velikoj Britaniji doveli su do smanjenja učestalosti ribotipa 027 kao i ukupne incidence CDI (87). Po ugledu na to i u našoj zemlji bi trebalo insistirati na smanjenju upotrebe fluorohinolona i njihovoj primeni samo onda kada je to zaista neophodno i kada ne postoje alternative u drugim antibioticima koji nose manji rizik za CDI.

Upravo imajući to u vidu, u ovom istraživanju, u cilju lečenja pridruženih infekcija kod bolesnika sa CDI fluorohinoloni nisu uopšte korišćeni, primena cefalosporina je bila svedena na minimum, a ordinirani su, empirijski ili po pristizanju antibiograma, upravo antibiotici koji su povezani sa manjim rizikom za pogoršanje ili recidiv CDI. S obzirom na sve navedeno, najčešće korišćeni antibiotici bili su karbapenemi, aminoglikozidi i vankomicin. Nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike u učestalosti primene pridružene antibiotske terapije između bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom.

Pridružene bolničke infekcije upravo su i bile najčešće, ali ne i jedine komplikacije tokom lečenja CDI. Kod ukupno 128 od 287 analiziranih bolesnika (44,6%) došlo je do razvoja neke od komplikacija pri čemu nije bilo statistički značajne razlike u ukupnoj učestalosti komplikacija između bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom. Kod 12 bolesnika (4,5%) i to kod 3 (2,8%) lečena teikoplaninom i 9 (5,0%) lečenih vankomicinom došlo je do naknadnog razvoja hirurških komplikacija tj. ileusa sa ili bez razvoja toksičnog megakolona nakon započinjanja terapije.

Kada je reč o bolničkim infekcijama, one su nastale kod ukupno 61 (21,3%) bolesnika. Najzastupljenije su bile urinarne infekcije koje su bile prisutne kod 39 (13,6%) bolesnika. Pneumoniju je imalo 17 (5,9%) bolesnika, a sepsu njih 23 (8,0%). Najčešće izolovani patogeni u urinokulturama i hemokulturama očekivano su bile multirezistentne bolničke bakterije *Klebsiella sp*, *Proteus mirabilis* i *Escherichia coli*.

U broj bolesnika sa urinarnim infekcijama u ovom istraživanju nisu uključeni bolesnici sa asimptomatskom bakteriurijom. Asimptomatska bakteriurija podrazumeva izolaciju signifikantnog broja iste bakterije u jednoj (kod muškaraca) odnosno dve sukcesivne urinokulture (kod žena) u odsustvu dizuričnih tegoba ili febrilnosti, a može biti

praćena postojanjem leukociturije. Asimptomatska bakteriurija ne zahteva lečenje, osim kod trudnica ili u slučaju planirane transuretralne ili transvezikalne intervencije. Česta je kod bolesnika sa plasiranim urinarnim kateterom, a s obzirom na to da je njihov broj među bolesnicima hospitalizovanim zbog CDI veliki, važno je razlikovati asimptomatsku bakteriuriju od urinarne infekcije kako bi se izbegla nepotrebna primena antibiotika što bi za posledicu imalo razvoj rezistencije bakterija sa jedne, a pogoršanje i povećanje rizika za recidiv CDI sa druge strane.

Kod 11 (3,8%) bolesnika, uprkos primeni profilaktičke antikoagulantne terapije razvila se duboka venska tromboza donjih ekstremiteta, pri čemu je kod njih 5 (1,7%) došlo do posledične plućne tromboembolije. Duboka venska tromboza je kod izvesnog broja bolesnika verovatno bila prisutna i pre prijema, ali nije bila verifikovana ultrazvučnim pregledom. Duboka venska tromboza nastaje kao posledica nepokretnosti ovih bolesnika, prethodnog operativnog lečenja, pridružene maligne bolesti, ali i same CDI. Naime, istraživanje *Barmparas*-a i saradnika pokazalo je da CDI predstavlja nezavisan faktor rizika za nastanak tromboembolijskih komplikacija kod bolesnika u Jedinicama intenzivne nege uprkos primeni profilaktičke antikoagulantne terapije (267).

Do pogoršanja kardiovaskularne, cerebrovaskularne ili plućne bolesti, tokom lečenja CDI došlo je kod 27 (9,4%) bolesnika. Pogoršanje hroničnih bolesti nastaje usled elektrolitnog disbalansa, dehidracije, nepokretnosti, ali i mogućeg toksičnog dejstva samih toksina *C. difficile* na miokard. Naime, eksperimentalno istraživanje sprovedeno na modelu embriona ribe pokazalo je da toksin B deluje kao potentni kardiotoxin i smanjuje kontrakciju miokarda (44).

Standardnu terapiju CDI čine vankomicin i metronidazol, a poslednjih godina u sve češćoj upotrebi je i fidaksomicin koji je u poslednjoj verziji evropskog i američkog vodiča za lečenje CDI jedna od preporuka za lečenje bolesnika sa ovom bolešću (109,129).

Dva glavna problema sa kojima se susreću lekari u svakodnevnom radu sa bolesnicima obolelim od CDI su velika učestalost recidiva bolesti kao i sve češća pojava

refraktarnih slučajeva, tj. slučajeva CDI kod kojih izostaje povoljan odgovor na primenu standardne terapije. Upravo česti recidivi i refraktarni slučajevi i jesu glavni razlozi za kontinuirano traganje i pronalaženje novih terapijskih mogućnosti za lečenje ove bolesti. Navedeni problemi prisutni su kako u svetu, tako i u našoj zemlji. Suočeni sa sve većim brojem bolesnika koji se jednom ili više puta rehospitalizuju zbog ponovljenih epizoda CDI, a u uslovima gde fidaksomicin nije dostupan, javila se potreba da se pokuša da se pronađe nova opcija za lečenje CDI koja bi bila uspešnija u lečenju od vankomicina i metronidazola u smislu manje učestalosti recidiva i koja bi mogla da dovede do izlečenja ukoliko izostane povoljan odgovor na standardnu terapiju.

Čitajući postojeću literaturu, a imajući u vidu dostupnost lekova u našim uslovima, počeli smo sa davanjem peroralno primenjenog teikoplanina bolesnicima sa teškim i refraktarnim oblicima bolesti. Nakon izvesnog broja uspešno lečenih bolesnika sa jasno manjom učestalošću recidiva odlučeno je da se sprovede prospektivno istraživanje koje bi uporedilo efikasnost teikoplanina i vankomicina u lečenju teške i komplikovane CDI.

Prema podacima iz literature kliničko izlečenje nastupa kod oko 74-97% bolesnika sa CDI lečenih vankomicinom (160, 268). U ovom istraživanju do izlečenja je došlo kod 79,4% bolesnika lečenih vankomicinom što je u saglasnosti sa rezultatima drugih autora. Prema rezultatima jedne velike randomizovane kliničke studije koja je poredila efikasnost fidaksomicina i vankomicina u lečenju CDI, kliničko izlečenje nastupilo je kod 75% bolesnika lečenih vankomicinom (269). U sličnom istraživanju *Cornely*-a i saradnika kod 71% bolesnika lečenih vankomicinom postignuto je kliničko izlečenje nakon 10 dana terapije u standardnim dozama (111). *Musher* i saradnici objavili su sličnu stopu kliničkog izlečenja od 70% kod bolesnika sa teškom CDI lečenih vankomicinom (160). U istraživanju *Louie* i saradnika kliničko izlečenje je postignuto kod 88,6% bolesnika, a u istraživanju *Zar* i saradnika u 79% bolesnika sa teškom formom CDI (113,269).

U aktuelnom istraživanju, bolesnici sa teškom CDI lečeni teikoplaninom imali su statistički značajno veću učestalost kliničkog izlečenja u odnosu na bolesnike lečene vankomicinom. Naime, kliničko izlečenje postignuto je kod 97 (90,7%) bolesnika lečenih teikoplaninom. Kada se izolovano posmatraju bolesnici sa teškom nekomplikovanom i



teškom komplikovanom CDI, učestalost izlječenja postignuta primenom teikoplanina iznosila je 95,2% i 73,9% bolesnika, respektivno. Činjenica da između bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom nije bilo statistički značajne razlike u učestalosti različitih demografskih, kliničkih i laboratorijskih karakteristika koje bi mogle uticati na ishod CDI, razlika u procentu kliničkog izlječenja zaista je posledica efekta samih terapijskih režima.

Ranije studije koje su se bavile efikasnošću primene teikoplanina u lečenju CDI takođe su pokazale veći procenat izlječenja, a manju učestalost recidiva bolesti u odnosu na terapiju vankomicinom (136-138). *De Lalla* i saradnici u dva različita istraživanja pokazali su da je teikoplanin bio efikasan u lečenju pseudomembranoznog kolitisa u 96,2% i 100% slučajeva (136,137). U studiji *Wenish*-a i saradnika kliničko izlječenje je postignuto kod 96% bolesnika lečenih teikoplaninom (138). Navedene studije potiču iz perioda od pre 20 i više godina, pre pojave hipervirulentnog soja NAP1/BI/027 te stoga ekstrapolacija njihovih rezultata i poređenje sa aktuelnim periodom nisu sasvim adekvatni. Koliko je poznato, naše istraživanje je prvo u kome je analizirana efikasnost teikoplanina u lečenju teške CDI u „epidemijskoj“ eri, jedino koje je obuhvatilo bolesnike sa komplikovanom formom bolesti i najveće ikad sprovedeno o primeni teikoplanina u lečenju CDI. Tokom 2017. godine pojavila se još jedna studija o primeni teikoplanina u lečenju CDI sprovedena u Francuskoj koja je uključila samo 11 bolesnika pri čemu je izlječenje postignuto kod 90,9% (270).

Uprkos rezultatima prethodno pomenutih studija, teikoplanin nikada nije bio u široj upotrebi za lečenje CDI, verovatno zbog veće cene u odnosu na vankomicin i činjenice da nije registrovan za ovu indikaciju u SAD. Njegova retka primena mogla bi biti jedno od objašnjenja nešto veće učestalosti izlječenja u odnosu na terapiju vankomicinom postignute u našem istraživanju.

Bolesnici sa komplikovanom formom bolesti imaju najveći rizik za nepovoljni ishod CDI, ali uprkos tome predstavljaju grupu bolesnika o kojima postoji najmanje literaturnih podataka kada je reč o terapiji. U studiji koja je analizirala dodatak vankomicinskih klizmi standardnoj kombinovanoj terapiji, izlječenje je postignuto kod 58,3% pacijenata sa komplikovanom CDI lečenih standardnom terapijom i 54% onih

kojima je dodat vankomicin putem klizme (271). U retrospektivnoj studiji kojom je analizirana primena tigeciklina u kombinaciji sa standardnom terapijom, kliničko izlječenje je postignuto kod 6/7 (85,7%) bolesnika sa komplikovanom CDI (148). U skorijem istraživanju o primeni fidaksomicina u lečenju kritično obolelih, izlječenje je postignuto kod 34% bolesnika (272). U aktuelnim terapijskim vodičima fidaksomicin nije preporučen za lečenje komplikovane CDI (109,129).

Dobijeni procenat kliničkog izlječenja u ovom istraživanju od 73,9% među bolesnicima sa komplikovanom CDI lečenih kombinovanom terapijom teikoplaninom i metronidazolom je među najvećim opisanim u literaturi. Naravno, ovako veliki procenat izlječenja treba uzeti sa rezervom s obzirom na to da bolesnici sa životno-ugrožavajućom formom CDI pri prijemu nisu bili uključeni u istraživanje.

Teikoplanin se pokazao kao efikasniji od vankomicina i kada su analizirane druge posebne grupe bolesnika. Tako je u grupi bolesnika starijih od 65 godina učestalost postignutog kliničkog izlječenja bila statistički značajno veća kod bolesnika lečenih teikoplaninom u odnosu na bolesnike lečene vankomicinom. U ovoj populaciji izlječenje je postignuto kod 78,5% bolesnika lečenih vankomicinom i 90% lečenih teikoplaninom.

U grupi bolesnika sa prvim recidivom CDI izlječenje je postignuto kod 83,3% bolesnika lečenih teikoplaninom i 84,6% bolesnika lečenih vankomicinom, pri čemu nije bilo statistički značajne razlike između bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom. U ovoj podgrupi bolesnika u studiji *Cornely*-ja i saradnika, izlječenje je postignuto kod 91,6% bolesnika lečenih vankomicinom (273). Veća stopa izlječenja u navedenom istraživanju može se objasniti činjenicom da su analizom obuhvaćene različite kategorije CDI u pogledu težine bolesti, dok su u naše istraživanje uključeni isključivo bolesnici sa teškom formom bolesti. U istraživanju *Surawitz* i saradnika kliničko izlječenje bez recidiva bolesti nakon perioda praćenja postignuto je kod 55% bolesnika sa prethodnom CDI lečenih vankomicinom (194).

Kada je reč o bolesnicima sa pridruženom antibiotskom terapijom, izlječenje je postignuto kod 83,3% bolesnika lečenih teikoplaninom i 71% lečenih vankomicinom. Iako

teikoplanin jeste bio efikasniji od vankomicina u lečenju ove podgrupe bolesnika, razlika u procentu nije bila statistički značajna. Bolesnici bez pridružene antibiotske terapije imali su veći procenat kliničkog izlečenja bez obzira na terapijski režim. Slični rezultati dobijeni su i u drugim istraživanjima. U istraživanju *Mullane* i saradnika izlečenje je postignuto kod 79,4% bolesnika sa konkomitantnom antibiotskom terapijom lečenih vankomicinom (274).

Prosečno vreme do prestanka proliva u ovom istraživanju bilo je  $6,1 \pm 3,2$  dana i nije se statistički značajno razlikovalo između dve terapijske grupe. Prema različitim studijama iz literature vreme do prestanka proliva bilo je kraće, sa medijanom od 58-96 sati (111,113,137,138). U studiji *De Lalla* i saradnika iz perioda od 1989. do 1991. godine vreme do prestanka proliva iznosilo je  $3,4 \pm 1,4$  dana kod bolesnika sa pseudomembranoznim kolitisom i dijarejom vezanom za *C. difficile* lečenih teikoplaninom i  $3,6 \pm 1,7$  dana kod bolesnika lečenih vankomicinom, dok je u studiji *Wenish-a* i saradnika to vreme iznosilo je 2,8 dana u slučaju lečenja teikoplaninom i 3,1 dan kod lečenja vankomicinom (137,138). U istraživanju *Louie* i saradnika medijana vremena do prestanka proliva bila je 78h za bolesnike lečene vankomicinom u bolničkim uslovima, dok je u studiji španskih autora ona iznosila 4 dana (113,248). Duže vreme do prestanka proliva u našem istraživanju moglo bi se objasniti činjenicom da su u drugim istraživanjima obuhvaćeni kako bolesnici sa teškom tako i oni sa lakom i umereno teškom CDI.

Kada su analizirani faktori rizika koji bi mogli uticati na dužinu trajanja proliva nakon započinjanja terapije, kao nezavisni faktori izdvojili su se postojanje komplikovane forme bolesti, ileusa i primena pridružene antibiotske terapije što je bilo i očekivano. Starost preko 65 godina, postojanje prethodne epizode CDI, leukocitoza od preko  $15000/\text{mm}^3$ , dužina trajanja proliva pre započinjanja terapije kao i broj stolica tokom dana nisu bili povezani sa vremenom proteklom od početka terapije do prestanka proliva.

Kao što je prethodno pomenuto, poslednjih godina beleži se porast učestalosti refraktarnih formi CDI. Prema jednom istraživanju učestalost refraktarnih oblika bolesti kreće se do 14,2% pri lečenju vankomicinom i čak do 29% pri lečenju metronidazolom

(275). U istraživanju *Pepin*-a i saradnika terapija metronidazolom bila je neuspešna kod 9,6% bolesnika u periodu od 1991-2002. godine, odnosno 25,7% u periodu 2003-2004.godine. (276). Sličan rezultat zabeležen je i u istraživanju *Musher*-a i saradnika u kome je lečenje metronidazolom bilo neuspešno u 22% slučajeva (277).

U našem istraživanju nakon 14 dana terapije izlečenje je izostalo kod 7,2% bolesnika lečenih vankomicinom i samo 0,9% bolesnika lečenih teikoplaninom, pri čemu je razlika u procentu refraktarnih slučajeva bila statistički značajna. U istraživanju *De Lalla* i saradnika neuspeh pri lečenju CDI teikoplaninom bila je 3,8% na uzorku od 26 bolesnika (137). Refraktarnost na terapiju takođe je statistički značajno češće bila prisutna kod bolesnika sa komplikovanim u odnosu na nekomplikovani oblik CDI. Multivarijantnom analizom faktora rizika primena vankomicina i postojanje komplikovane forme CDI izdvojili su se kao nezavisni prediktori za održavanje simptoma i znakova bolesti nakon 14 dana terapije.

Kada se razmatraju uzroci refraktarnosti na standardnu terapiju, istraživanja su pokazala da je rezistencija *C. difficile* na metronidazol i vankomicin izuzetno retka, ali je poslednjih godina došlo do porasta MIC ovih lekova za pojedine ribotipove *C. difficile* (135,278). *Baines* i saradnici su pokazali da postoji smanjena osetljivost na metronidazol kod 24,4% izolata ribotipa 001 (279). *Wong* i saradnici prijavili su jedan izolat toksigenog soja *C. difficile* rezistentan na metronidazol, a *Barbut* i saradnici su opisali 6 rezistentnih izolata *C. difficile* sa MIC metronidazola od 8 do 32 mg/l među ukupno 198 izolata iz Francuske, međutim pet od tih 6 izolata bili su netoksigeni (280, 281).

U istraživanju *Freeman*-a i saradnika metronidazol, vankomicin i tigeciklin su bili aktivni protiv 97,82%, 96,84% i 99,56% testiranih izolata u Evropi (282). Samo jedan izolat ribotipa 106 bio je rezistentan na metronidazol (282). Sa druge strane, smanjenu osetljivost na ovaj lek pokazalo je 20 izolata, od čega je većina pripadala ribotipu 027 i 106 (282). Smanjena osetljivost na vankomicin u istom istraživanju bila je retka, pri čemu je MIC vankomicina bila značajno viša za izolate ribotipova 018 i 356 (282). U Češkoj, Irskoj, Letoniji i Poljskoj prijavljen je po jedan izolat *C. difficile* intermedijerne osetljivosti na vankomicin, dok je u Italiji i Španiji prijavljeno nekoliko izolata smanjene

osetljivosti na vankomicin pri čemu su registrovani i izolati rezistentni na ovaj lek među ribotipovima 027, 126, 356 i 001/072 (282). Na žalost, naše istraživanje nije obuhvatilo i određivanje MIC vankomicina i metronidazola za *C. difficile*. S obzirom na to da se iz rezultata pomenutih studija iz literature uočava da se smanjena osetljivost na vankomicin i metronidazol najčešće ipak javlja kod ribotipa 027 koji se pokazao kao nedvosmisleno dominantan u populaciji naših bolesnika, može se pretpostaviti da se i među njima nalaze izolati sa smanjenom osetljivošću na metronidazol i vankomicin. Ovo bi moglo biti jedno od objašnjenja neuspeha standardne terapije, mada se može postaviti pitanje realnog značaja porasta MIC vankomicina za *C. difficile*, s obzirom na to da je fekalna koncentracija vankomicina unetog *per os* visoka i daleko premašuje vrednosti MIC i kod rezistentnih sojeva (128). Naime, istraživanjem *Gonzales*-a i saradnika pokazano je da se pri primeni standardne doze vankomicina od 125mg *per os* dnevno u vidu razblaženog praška za injekciju ili intravensku infuziju postiže fekalna koncentracija koja je često 500-1000 puta veća od MIC za *C. difficile* (128). Fekalna koncentracija bila je nešto niža kod bolesnika sa više od 4 neformirane stolice dnevno zbog verovatne dilucije vankomicina zbog većeg volumena stolice (128). Samo kod jednog bolesnika prvog dana bolesti fekalna koncentracija vankomicina bila je 15mg/l i 33mg/l u dva merenja, što bi moglo biti nedovoljno kod sojeva sa slabijom osetljivošću na vankomicin (128). Ovaj rezultat mogao bi da opravda eventualnu primenu većih doza vankomicina prvog dana bolesti u vidu tzv. "udarne doze" (128). Istim istraživanjem je pokazano da su serumske koncentracije vankomicina nakon njegove peroralne primene zanemarljive (128).

U našem istraživanju smrtni ishod je nastupio kod ukupno 29 (10,1%) bolesnika, pri čemu nije bilo statistički značajne razlike u učestalosti smrtnog ishoda između bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom. Takođe, iako je smrtni ishod bio češći kod bolesnika lečenih vankomicinom u odnosu na bolesnike lečene teikoplaninom kako u grupi onih sa teškom nekomplikovanom tako i u grupi bolesnika sa komplikovanom CDI, razlika u smrtnosti u zavisnosti od terapijskog režima nije bila statistički značajna ni u jednoj od kategorija bolesti. Učestalost smrtnog ishoda bila je 11,7% kod bolesnika lečenih vankomicinom i 7,5% kod lečenih teikoplaninom. Kada se izolovano posmatraju bolesnici sa komplikovanom i nekomplikovanom formom bolesti, smrtni ishod je nastupio

kod 4% i 8% bolesnika sa nekomplikovanom odnosno kod 17,4% i 23,8% bolesnika sa komplikovanom CDI lečenih teikoplaninom i vankomicinom, respektivno.

Smrtnosti bolesnika sa CDI koja se pominje u literaturi kreću se od 4,9% do 35,9% u zavisnosti od analizirane populacije, težine bolesti i primenjene terapije kod bolesnika lečenih konzervativno, dok je kod bolesnika koji zahtevaju hirurško lečenje CDI procenat smrtnog ishoda i veći i pojedinim autorima dostiže 42% i 45,7% (283-286).

*Bishara* i saradnici u studiji sprovedenoj u Izraelu utvrdili su smrtnost od CDI od 12,4% što je u skladu sa rezultatima našeg istraživanja (287). Sličnu smrtnost od 13,2% imali su i bolesnici iz studije *Pant* i autora, dok je stopa mortaliteta u istraživanju *Jansen* i saradnika iznosila 19% kod bolesnika sa teškom CDI (288,289). U studiji *Moshkowitz-a* i autora smrtni ishod je nastupio kod 29% bolesnika sa pseudomembranoznim kolitisom (228). *Patel* i saradnici su prikazali smrtnost od 18,5% kod bolesnika sa teškom CDI i 37,5% bolesnika sa komplikovanom CDI lečenih u skladu sa aktuelnim terapijskim vodičima (290). U drugim studijama koje su analizirale ishod lečenja bolesnika sa teškom odnosno komplikovanom CDI lečenih u Jedinicama intenzivne nege smrtni ishod je nastupio kod 27,6%, 36,7% i čak 52,7% bolesnika (291-293). Isključivanje kritično obolelih sa neposredno životno-ugrožavajućom CDI pri prijemu iz našeg istraživanja moglo bi biti objašnjenje za nešto niži procenat smrtnog ishoda kod naših bolesnika sa komplikovanom CDI u odnosu na podatke iz literature.

Vreme do smrtnog ishoda nakon započinjanja terapije u proseku je iznosilo  $13,2 \pm 12,7$  dana kod bolesnika lečenih teikoplaninom i  $11,7 \pm 4,6$  dana kod onih lečenih vankomicinom. Nije utvrđena statistički značajna razlika u vremenu do smrtnog ishoda kod bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom.

Uzrok smrtnog ishoda kod 27,6% bolesnika bila je sama CDI tj. septični šok u okviru komplikovane CDI sa ili bez razvoja diseminovane intravaskularne koagulacije. Međutim, kod bolesnika sa CDI osim kao posledica multiorganske disfunkcije u okviru komplikovane forme bolesti, smrtni ishod često nastaje kao posledica neke druge bolesti, do koje je CDI indirektno dovela. Naime, produžena hospitalizacija bolesnika sa CDI nosi

rizik za razvoj bolničkih infekcija poput pneumonije, urinarne infekcije i sepse koje mogu dovesti do smrtnog ishoda bolesnika. U našem istraživanju kod 24,1% bolesnika smrtni ishod je upravo i nastupio usled pridružene urosepse. Takođe, u toku CDI, naročito u slučaju teške ili komplikovane forme bolesti, dolazi do značajne dehidracije, metaboličkog i elektrolitnog disbalansa što može dovesti do pogoršanja hroničnih bolesti, koje onda mogu biti neposredni uzrok smrtnog ishoda. Tako se kod 24,1% bolesnika u našem istraživanju smrtni ishod dogodio kao posledica bolesti srca (srčanog popuštanja ili verovatnog infarkta miokarda). Česta nepokretnost bolesnika zbog komorbiditeta, samo protrombogeno dejstvo CDI, kao i prethodne hirurške intervencije nose rizik od razvoja duboke venske tromboze koja se može komplikovati plućnom tromboembolijom koja je bila verovatni uzrok smrti kod 4 bolesnika (13,8%).

Kada su analizirani faktori rizika za smrtni ishod, nakon multivarijantne analize godine starosti, postojanje komplikovane forme bolesti i leukocitoza preko 30000/mm<sup>3</sup> izdvojili su se kao nezavisni faktori rizika za smrtni ishod. Primena određene terapijske opcije (vankomicina ili teikoplanina), kao ni postojanje prethodne epizode CDI niti primena pridružene antibiotske terapije nisu se pokazali kao faktori rizika za smrtni ishod.

Naši rezultati u skladu su sa procenjenim faktorima rizika u literaturi. U istraživanju *Chakra* i saradnika godine starosti su se takođe pokazale kao prediktor smrtnog ishoda, a ostali faktori rizika u ovom istraživanju bili su komorbiditeti, hipoalbuminemija, leukocitoza, akutna bubrežna insuficijencija i infekcija ribotipom 027 (220). Starost, infekcija ribotipom 027 i komorbiditeti izraženi *Charlson* skorom takođe su se pokazali kao prediktori smrtnog ishoda i u kanadskoj studiji (294). U studiji *Stewart*-a i saradnika smrtnost je takođe bila povezana sa infekcijom sojem 027 (295).

Možda i najveći problem sa kojim se lekari sreću u svakodnevnom kliničkom radu sa bolesnicima obolelim od CDI jeste česta pojava recidiva bolesti.

Recidiv CDI može nastati zbog germinacije spora koje su zaostale u gastrointestinalnom traktu u uslovima gde je crevna mikroflora narušena prethodnom primenom antibiotske terapije (16). Smatra se da je za adekvatnu obnovu crevne

mikrobiote nakon primenjene antibiotske terapije potrebno oko 2-3 meseca zbog čega to i jeste rizični period u toku koga može doći do razvoja recidiva CDI. Ponovna pojava dijarealnog sindroma nakon dva meseca smatra se reinfekcijom, a ne recidivom bolesti (77, 109).

Pojedini autori u slučajevima višestrukih recidiva naglašavaju ulogu nemogućnosti bolesnika da stvori adekvatan dugotrajni imunski odgovor, tj. adekvatan nivo specifičnih anti-toksin A IgG antitela i specifičnih fekalnih IgA antitela (296,297). U drugoj studiji pokazano je da je prisustvo polimorfizma jednog nukleotida u promotoru gena za IL-8 povezano sa visokim rizikom za pojavu recidiva CDI (298).

Svaki recidiv bolesti dovodi do mogućeg razvoja komplikacija poput ileusa i toksičnog megakolona, potencijalnog novog prijema u bolnicu, a svaka nova hospitalizacija nosi sa sobom rizik od pojave drugih bolničkih infekcija i potrebe za daljom primenom antibiotske terapije, što opet predstavlja rizik za posledični ponovni recidiv CDI. Recidivi CDI ne samo da povećavaju troškove lečenja i predstavljaju značajan ekonomski problem za zdravstveni sistem, već i ometaju oporavak bolesnika od osnovne bolesti, utiču na kvalitet života bolesnika i povećavaju rizik za nepovoljan ishod (299,311). Još jedan važan aspekt jeste taj što bolesnici sa recidivom bolesti predstavljaju rezervoar za širenje *C. difficile* van bolničke sredine u periodu po otpustu nakon, na izgled, uspešnog izlečenja. Zbog svega navedenog prevazilaženje problema velike učestalosti recidiva predstavlja jedan od glavnih izazova u borbi protiv CDI.

Većina recidiva razvije se unutar prvih 30 dana po završetku uspešne terapije CDI (301). Prema istraživanju *Johnson*-a i saradnika prosečno vreme do pojave recidiva bilo je 14,5 dana (302). Rezultat našeg istraživanja u skladu je sa ovim literaturnim podatkom. Vreme do pojave recidiva bolesti nakon završene terapije u proseku je iznosilo  $13,2 \pm 8,7$  dana kod bolesnika lečenih teikoplaninom i  $14,0 \pm 12,9$  dana kod onih lečenih vankomicinom, pri čemu nije utvrđena statistički značajna razlika u vremenu do pojave recidiva kod bolesnika lečenih različitim terapijskim režimima.



Učestalost recidiva u ovom istraživanju kod bolesnika lečenih vankomicinom iznosila je 30,4% i 35% kod bolesnika sa komplikovanom i teškom nekomplikovanom formom bolesti, respektivno. Navedene učestalosti recidiva su među najvećim opisanim u literaturi. Prema podacima iz drugih radova kod bolesnika lečenih vankomicinom učestalost recidiva iznosi i do 38%, dok kod bolesnika sa prethodnom epizodom CDI može dostići čak 40-65% (16,111). Ove učestalosti recidiva odnose se na bolesnike sa CDI nezavisno od težine bolesti. Činjenica da su našim istraživanjem obuhvaćeni isključivo bolesnici sa teškom i komplikovanom CDI mogla bi biti jedno od objašnjenja za veliku učestalost recidiva u grupi bolesnika lečenih vankomicinom. Tako na primer, incidenca recidiva CDI kod bolesnika lečenih u hirurškoj intenzivnoj nezi u istraživanju *Jasiak*-a i saradnika bila je čak 43,8% (303). U podgrupi bolesnika sa teškom CDI lečenih u Italiji 5/17 (29,4%) bolesnika je razvilo recidiv bolesti (304). Istraživanja drugih autora takođe su pokazala veliku učestalost recidiva nakon lečenja vankomicinom kada se izolovano posmatraju bolesnici sa teškom CDI. U kanadskoj studiji recidiv je nastupio kod 28% bolesnika lečenih vankomicinom (305). *Young* i saradnici pokazali su učestalost recidiva od 25% kod bolesnika sa teškom CDI nakon lečenja vankomicinom, dok su za istu kategoriju bolesnika učestalosti recidiva od 33% i 26,6% zabeležene u istraživanjima *Cornely*-a i saradnika i *Louie*-a i saradnika (111,113,114). U podgrupi bolesnika sa hematološkim malignim bolestima recidiv CDI imalo je 41% bolesnika (306).

Značajan udeo bolesnika sa prvim recidivom CDI u našem istraživanju koji je bio prisutan u obe terapijske grupe (33,6% u grupi lečenih teikoplaninom i 36,1% u grupi lečenih vankomicinom) je još jedno od objašnjenja velike učestalosti recidiva u grupi bolesnika lečenih vankomicinom koja se skoro približava učestalosti koja se javlja nakon prvog recidiva CDI. U istraživanju koje je poredilo efikasnost vankomicina i fidaksomicina u lečenju prvog recidiva, recidiv se dogodio u 35,5% bolesnika lečenih vankomicinom (273). Istu kategoriju bolesnika analizirali su i *Pepin* i saradnici pri čemu je utvrđena učestalost recidiva od 33% (276).

Nasuprot velikoj učestalosti recidiva zabeleženoj kod bolesnika sa teškom i komplikovanom CDI lečenim vankomicinom, učestalost recidiva nakon lečenja teikoplaninom bila je samo 9,3%, što je bilo statistički značajno manje. Ova razlika je

ostala statistički značajna i nakon multivarijantne analize te se tako teikoplanin pokazao kao nezavisan prediktor manje učestalosti recidiva kod bolesnika sa teškom CDI.

Kada je reč o učestalosti recidiva između bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom u zavisnosti od težine bolesti, bolesnici sa teškom nekomplikovanom formom bolesti lečeni teikoplaninom imali su statistički značajno manju učestalost recidiva bolesti u odnosu na one lečene vankomicinom, dok u slučaju komplikovane CDI iako su bolesnici lečeni teikoplaninom imali manju učestalost recidiva nego bolesnici lečeni vankomicinom, razlika nije bila statistički značajna. Navedena učestalost recidiva iznosile su 10% i 35% u slučaju teške nekomplikovane i 5,9% i 30,4% u slučaju teške komplikovane forme bolesti kod bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom, respektivno.

Učestalost recidiva nakon terapije teikoplaninom od 9,3%, odnosno 5,9% i 10% u zavisnosti od težine bolesti, slična je rezultatima prethodnih istraživanja o primeni teikoplanina u lečenju CDI u kojima je recidiv nastupio kod 0%, 7% i 7,7% bolesnika (136-138). Rezultati pomenutih istraživanja moraju se uzeti sa oprezom, s obzirom na to da potiču iz perioda pre pojave hipervirulentnog soja CDI kao i na to da je u njih bio uključen mali broj bolesnika.

Postignuta učestalost recidiva CDI nakon lečenja teikoplaninom u našem istraživanju ne samo da je značajno manja od dobijene učestalosti recidiva zabeležene kod bolesnika lečenih vankomicinom, već su upadljivo niže od većine opisane u literaturi nakon lečenja vankomicinom poslednjih godina. Zapažanje da peroralno primenjen teikoplanin može biti efikasniji od vankomicina ne samo u smislu kliničkog, već i bakteriološkog izlečenja moglo bi biti jedno od objašnjenja manje učestalosti recidiva nakon lečenja teikoplaninom (137). Naime, u dva istraživanja *De Lalla* i saradnika ispitivano je prisustvo *C. difficile* u stolici bolesnika nakon završene terapije i postignutog izlečenja (136,137). Rezultati ovih istraživanja pokazali su procenat asimptomatskog kliconoštva *C. difficile* bez pojave kliničkog recidiva bolesti od 4,5% i 7,7% kod bolesnika lečenih teikoplaninom, nasuprot 25% kod bolesnika lečenih vankomicinom (136,137).

Takođe, odsustvo šire primene teikoplanina za ovu indikaciju moglo je doprineti manjem procentu recidiva u odnosu na onaj nakon lečenja vankomicinom.

Kada su analizirani faktori rizika za pojavu recidiva bolesti univarijantnom analizom, primena vankomicina, broj leukocita, leukocitoza preko  $15000/\text{mm}^3$  i hipoalbuminemija ispod  $30\text{g/l}$  pokazali su se kao faktori povezani sa većom učestalošću recidiva bolesti. Naknadnom multivarijantnom analizom, primena teikoplanina se izdvojila kao glavni i nezavisan prediktor manje učestalosti recidiva nakon postignutog kliničkog izlečenja, ističući time potencijalno najvažniju prednost teikoplanina nad vankomicinom u lečenju CDI. Ovaj rezultat posebno dobija na značaju zbog činjenice da su istraživanjem obuhvaćeni bolesnici sa teškom i komplikovanom CDI koji i predstavljaju najveći problem u lečenju CDI i kod kojih recidiv bolesti može najviše narušiti opšte stanje i povećati šansu za nepovoljan ishod. Takođe, validnost ovog rezultata potkrepljena je time što, kao što je već opisano, između bolesnika lečenih vankomicinom i teikoplaninom nije bilo statistički značajne razlike u inicijalnim kliničkim i laboratorijskim karakteristikama niti godinama starosti te je time isključen mogući uticaj pristrasnosti prilikom odabira bolesnika i terapijskog režima.

Iako je na osnovu podataka iz literature bilo očekivano, godine starosti, primena konkomitantne antibiotske terapije i prethodna epizoda CDI nisu bili povezani sa češćim nastankom recidiva. Osim starosti i primene pridružene terapije kao značajan prediktor za pojavu recidiva u literaturi se navode i primena inhibitora protonske pumpe, bubrežna insuficijencija i infekcija ribotipom 027, a jedno istraživanje je pokazalo da je posebno primena fluorohinolona bila nezavisan prediktor pojave recidiva, što je i očekivano s obzirom na to da poslednjih petnaestak godina ovi antibiotici i predstavljaju najveći rizik za razvoj CDI (16,66,84,109,276,297,307-309). Činjenica da je kod bolesnika dominirala infekcija ribotipom 027 mogla bi biti još jedno od objašnjenja velike učestalosti recidiva nakon terapije vankomicinom u našem istraživanju.

S obzirom na pomenute faktore koji se u literaturi najčešće povezuju sa većom učestalošću recidiva CDI, analiziran je i efekat primene teikoplanina na pojavu recidiva u podgrupama bolesnika sa prisutnim navedenim prediktorima. Ovom analizom je pokazano

da je teikoplanin bio superiorniji u odnosu na vankomicin u pogledu manje učestalosti recidiva bolesti kod bolesnika starijih od 65 godina kao i onih sa prethodnom epizodom CDI tj. sa prvim recidivom bolesti. Naime, kod bolesnika starijih od 65 godina do recidiva bolesti je došlo kod samo 8,3% bolesnika lečenih teikoplaninom nasuprot čak 37,2% kolika je bila učestalost recidiva nakon lečenja vankomicinom. Imajući u vidu da bolesnici stariji od 65 godina predstavljaju upravo populaciju koja najčešće oboleva od CDI uopšte, a posebno od teških oblika bolesti, ova prednost teikoplanina dodatno dobija na važnosti. Takođe, posebno je značajna i učestalost recidiva kod bolesnika sa prethodnom epizodom CDI koja je bila samo 9%, s obzirom na to da je već pomenuto da učestalost recidiva bolesti kod bolesnika sa prethodnom epizodom CDI dostiže čak 40-65%. Kada je reč o podgrupi bolesnika kod kojih je zbog druge pridružene infekcije primenjivana dopunska antibiotska terapija, teikoplanin nije pokazao prednost nad vankomicinom u pogledu učestalosti recidiva bolesti.

Učestalost recidiva CDI nakon terapije teikoplaninom dobijene ovim istraživanjem manja je čak i od učestalosti recidiva nakon primene fidaksomicina u lečenju CDI čija je glavna prednost nad vankomicinom upravo manja učestalost recidiva. U istraživanju *Louie* i saradnika ukupna učestalost recidiva nakon lečenja fidaksomicinom bila je 13,3%, pri čemu je u populaciji bolesnika starijih od 65 godina ta učestalost iznosila 19,4%, kod bolesnika sa teškom CDI 13%, a kod bolesnika sa prethodnom CDI 21,4% (113). U studiji *Cornely*-ja i saradnika recidiv je nastupio kod 12,8% bolesnika, dok je u drugoj multicentričnoj studiji recidiv nastupio kod 14,1% svih bolesnika, odnosno kod 13,7% onih sa teškom CDI (111,269). Kada je reč o prospektivnim studijama iz realnog života, prema podacima *Nesnas* i saradnika recidiv je imalo 10% bolesnika lečenih fidaksomicinom (310). U drugoj studiji sprovedenoj u SAD izlečenje je postignuto kod 98,4% bolesnika, a takođe 10% bolesnika je kasnije imalo recidiv (311).

Manja učestalost recidiva nakon lečenja fidaksomicinom mogu se objasniti njegovim selektivnim dejstvom na *C. difficile* čime se štedi crevna mikroflora, za razliku od metronidazola, vankomicina pa i teikoplanina, koji deluju na različite uobičajene i korisne bakterije prisutne u crevnom traktu te istovremeno dok traje lečenje CDI ovi lekovi, iako ne značajno, ipak dodatno narušavaju crevnu mikrofloru, onemogućavajući

njen oporavak što je neophodno za zaustavljanje pojave budućih epizoda bolesti jer je integritet crevne mikrobiote neophodan za borbu protiv *C. difficile* (139, 143-145). Na ovom principu funkcioniše i fekalna transplantacija kao metoda za lečenje bolesnika sa višestrukim recidivima i refraktarnim formama CDI (200). Takođe, ovo je i razlog zašto terapiju metronidazolom i glikopeptidnim antibioticima u lečenju CDI ne treba davati duže nego što je predviđeno niti u cilju „prevencije“ CDI tokom primene drugih antibiotika, jer svaka njihova bespotrebna primena ne samo da nema koristi, već nanosi dodatnu štetu već poremećenoj crevnoj mikroflori. Drugo objašnjenje manje učestalosti recidiva CDI nakon lečenja fidaksomicinom jeste to što lek održava visoke koncentracije u stolici i do 21 dan nakon završene terapije, što omogućava prolongirano dejstvo leka i uporedni oporavak crevne mikrobiote (142).

Jedna mana fidaksomicina jeste to što se ovaj lek nije pokazao kao superiorniji nad vankomicinom u smislu manje učestalosti recidiva u podgrupi bolesnika inficiranih ribotipom 027 (312). S obzirom na to da je kod više od 90% analiziranih izolata naših bolesnika izolovan upravo ribotip 027 može se zaključiti da je teikoplanin efikasan i u lečenju bolesnika sa ovim ribotipom *C. difficile* kao i da i kod ovih bolesnika dovodi do manje učestalosti recidiva u odnosu na vankomicin.

Kao što je već pomenuto, pored velike učestalosti recidiva bolesti, drugi značajan problem u radu sa bolesnicima sa CDI jeste sve češća pojava slučajeva refraktarnih na standardnu terapiju. Potrebno je razlikovati refraktarnu CDI od postinfektivnog sindroma iritabilnih creva. Naime, pod refraktarnom CDI podrazumeva se perzistiranje simptoma i znakova infekcije uprkos primeni adekvatne standardne terapije. Međutim, ukoliko proliv perzistira uprkos adekvatnoj terapiji koja traje 20 dana, ali je broj stolica mali, neformirane stolice su povremene, broj Le u granicama referentnih vrednosti, nema distenzije creva niti bolova u trbuhu najverovatnije se radi o postinfektivnom sindromu iritabilnih creva i u tom slučaju se može razmotriti primena antiperistaltičkih agenasa poput loperamida koji su inače kontraindikovani tokom CDI i bilo koje druge crevne infekcije (129).

Kada je reč o analizi uspešnosti teikoplanina u lečenju bolesnika sa teškom i komplikovanom CDI refraktarnom na primenu vankomicina i metronidazola ovim istraživanjem je obuhvaćeno 24 bolesnika prosečne starosti  $70,4 \pm 8,8$  godina, pri čemu je 62,5% bolesnika bilo starije od 65 godina. Svi bolesnici su inicijalno, pri započinjanju standardne terapije, kao i u momentu započinjanja terapije teikoplaninom imali tešku ili komplikovanu formu CDI. Pet bolesnika je pre uvođenja teikoplanina dobijalo i vankomicin putem klizme zbog postojanja ileusa, ali su tegobe ipak perzistirale.

S obzirom na perzistiranje tegoba uprkos primeni adekvatne terapije, nakon 14 dana kod 22 od 24 (91,6%) bolesnika učinjena je rektosigmoidoskopija u cilju isključenja pridruženih bolesti creva i potvrde dijagnoze pseudomembranoznog kolitisa. Kod izvesnog broja bolesnika rektosigmoidoskopija je već rađena pre početka standardne terapije. Zanimljivo je to što je kod 21/22 bolesnika (95,5%) i nakon 14 dana standardne terapije potvrđeno prisustvo pseudomembrana kakve se viđaju i kod bolesnika koji nisu prethodno lečeni, dok je kod jednog bolesnika viđena samo hiperemija sluznice kolona.

Pri započinjanju inicijalne standardne terapije, od ova 24 bolesnika njih 7 (29,2%) je imalo komplikovanu formu bolesti, dok je u momentu započinjanja terapije teikoplaninom komplikovanu bolest imalo 5 (20,8%) bolesnika. Ovde je važno napomenuti da manji broj bolesnika sa komplikovanom formom bolesti nakon 14 dana standardne terapije ne znači da je kod svih bolesnika došlo do poboljšanja stanja. Naime, dvoje od 5 bolesnika koji su imali komplikovanu bolest u trenutku uvođenja teikoplanina, nije imalo komplikovanu bolest pri prijemu, već je do pogoršanja i razvoja kliničke slike komplikovane forme CDI došlo tokom primene standardne terapije. Takođe, uprkos primeni adekvatne standardne terapije povećao se i broj bolesnika sa ileusom, toksičnim megakolonom i hipotenzijom koja zahteva primenu vazopresora, dok se kod jednog bolesnika razvila akutna bubrežna insuficijencija koja nije postojala pri prijemu. Pogoršanje opšteg stanja bolesnika kao i perzistiranje pseudomembranoznog kolitisa uprkos primeni adekvatne terapije prema važećim vodičima definitivno ukazuje na odsustvo odgovora na primenjenu terapiju.

Osim što se kod određenog broja bolesnika razvila komplikovana bolest koja nije inicijalno bila prisutna, takođe se u odnosu na početak standardne terapije povećao i broj bolesnika sa ascitesom, pleuralnim izlivima i perifernim edemima što bi se moglo objasniti većim stepenom hipoalbuminemije usled dužeg trajanja proliva.

Po uvođenju teikoplanina u terapiju kod svih bolesnika došlo je do izvesnog poboljšanja, a kod 91,7% bolesnika postignuto je kliničko izlečenje. Smrtni ishod je nastupio kod samo jednog bolesnika, i to ne kao posledica neizlečene CDI, već kao posledica urosepse pri čemu je kod ovog bolesnika proliv prestao pre smrtnog ishoda. Samo kod jednog (4,2%) bolesnika nije došlo do kliničkog izlečenja već je proliv perzistirao i nakon 20 dana terapije teikoplaninom.

Prosečno vreme do prestanka proliva od momenta uvođenja teikoplanina u terapiju iznosilo je  $6,3 \pm 3,8$  dana (od 3 do 18 dana) što je slično vremenu do prestanka proliva i kod bolesnika analiziranih u prvom delu istraživanja. U istraživanju *Herpers*-a i saradnika koji su takođe analizirali refraktarnu CDI vreme do prestanka proliva bilo je od 3 do 7 dana, što je u skladu sa rezultatom našeg istraživanja (130). Kao što je i očekivano, vreme do prestanka proliva bilo je duže kod bolesnika sa komplikovanom formom bolesti.

Uspeh teikoplanina u lečenju CDI kod bolesnika kod kojih nije došlo do izlečenja primenom vankomicina možda bi se mogla objasniti retkom primenom teikoplanina kao i činjenicom da je, prema rezultatima različitih istraživanja, MIC teikoplanina za *C. difficile* četiri puta manja od MIC vankomicina, a imajući u vidu da je jedno od objašnjenja za neuspeh standardne terapije upravo porast MIC vankomicina i metronidazola za pojedine sojeve *C. difficile* (135,278).

Može se diskutovati da li je ovako veliki procenat uspešnosti teikoplanina u lečenju CDI refraktarne na primenu vankomicina i metronidazola posledica efekta samog teikoplanina ili duže ukupne primene jedne i druge terapije. Činjenica da se kod nekih bolesnika stanje pogoršalo tokom primene standardne terapije kao i da su kod 22 od 24 nakon 14 dana standardne terapije endoskopski viđene pseudomembrane kakve se viđaju

kod bolesnika koji nisu prethodno lečeni, ipak govori u prilog tome da je za izlečenje zaslužan teikoplanin.

Ne samo da se teikoplanin pokazao kao efikasan u smislu postizanja izlečenja kod refraktarne CDI već je i učestalost recidiva nastala nakon ove terapije bila veoma mala uprkos tome što je među ovim bolesnicima bilo bolesnika sa pridruženom antibiotskom terapijom i prethodnom epizodom CDI kod kojih bi se očekivala veća učestalost recidiva. Naime, tokom perioda praćenja od 8 nedelja do recidiva je došlo kod samo jednog (4,5%) bolesnika. I ovde bi se moglo spekulirati da li je mala učestalost recidiva rezultat lečenja teikoplaninom ili ukupne dugotrajne terapije. S obzirom na to da dosadašnja istraživanja nisu pokazala prednost primene terapije CDI duže od 10-14 dana u smislu postizanja manje recidiva, malo je verovatno da je ukupna duža terapija uzrok male učestalosti recidiva, mada je neosporno da bi se tokom duže terapije za CDI crevna mikroflora mogla bolje oporaviti i time suprotstaviti nastanku recidiva bolesti. Naravno, rezultat o učestalosti recidiva treba uzeti sa rezervom s obzirom na mali broj analiziranih bolesnika u ovom delu istraživanja.

Iako refraktarna bolest predstavlja značajan problem u lečenju CDI, jasne smernice za njeno lečenje ne postoje, a podaci u literaturi se mahom svode na pojedinačne prikaze ili serije slučajeva. Od potencijalnih terapijskih opcija za lečenje CDI koja ne odgovara na primenu standardne terapije u literaturi se najčešće pominju intravenski imunoglobulini, tigeciklin i fekalna transplantacija.

Mali je broj studija o primeni IVIG u lečenju CDI, ali su sva istraživanja pokazala njihov povoljan efekat u lečenju ove bolesti (131,203,313-318). Prvi put primena humanih IVIG u lečenju CDI u literaturi se spominje 1991. godine kada su IVIG dati grupi od petoro dece sa rekurentnom CDI (313). Analiza serumskih koncentracija antitoksin A antitela kod ove dece pokazala je niže koncentracije u odnosu na zdravu decu (313). Nakon primene IVIG kod svo petoro dece došlo je do brzog prestanka tegoba i izlečenja (313). Ostali prikazi i serije slučajeva pokazali su uspeh u lečenju umerenih i teških formi CDI, upornih recidivirajućih slučajeva, kao i bolesnika refraktarnih na standardnu terapiju, što predstavlja poseban značaj (203, 314-318). U istraživanju *Mc Pherson*-a i saradnika



prikazan je uspeh IVIG u kombinaciji sa standardnom terapijom u lečenju refraktarne CDI (131). U našem istraživanju kod bolesnika čija je bolest bila refraktarna na teikoplanin, do izlečenja je došlo upravo nakon primene IVIG.

Kada je reč o primeni tigeciklina, u literaturi postoji nekoliko prikaza slučaja o postignutom izlečenju refraktarne CDI (130,148-150,152). *Herpers* i saradnici su pokazali uspešnost tigeciklina kod tri od četiri bolesnika sa teškom refraktarnom CDI pri čemu su bolesnici osim tigeciklina dobijali i vankomicin uporedo ili u vidu kasnije prolongirane terapije opadajućim dozama (130). Tokom tri meseca praćenja kod ovih bolesnika nije došlo do pojave recidiva (130). U radu *Lu* i saradnika opisan je slučaj teške refraktarne CDI koja je razrešena primenom tigeciklina i metronidazola, sa nastavkom terapije vankomicina tokom 8 nedelja (149). *Lao* i saradnici opisali su slučaj imunokompromitovanog bolesnika čija je refraktarna CDI razrešena primenom tigeciklina, vankomicina i rifaksimina, a kombinacija rifaksimina i tigeciklina pokazala se uspešnom i u prikazu slučaja teške refraktarne CDI *El-Herte* i saradnika (150,152). *Britt* i saradnici su pokazali efikasnost tigeciklina u lečenju komplikovane CDI (148). U poslednjim vodičima za lečenje CDI tigeciklin je našao svoje mesto kao jedna od opcija za lečenje refraktarne CDI (109,129).

Fekalna transplantacija predstavlja veoma zanimljivu i metodu lečenja koja je u ekspanziji poslednjih godina za lečenje bolesnika sa višestrukim recidivima kao i sa refraktarnom CDI (197,198). Kontraindikacija za ovu terapiju jeste postojanje imunosupresije, a primena konkomitantne antibiotske terapije smanjuje efekat fekalne transplantacije jer dovodi do narušavanja crevne flore u transplantiranom uzorku (197,198). Istraživanja su pokazala da je fekalna transplantacija uspešna i kod refraktorne CDI kod bolesnika sa inflamatornim bolestima creva, kod refraktornog pseudomembranoznog kolitisa i toksičnog megakolona (319-321). Jedan od prikaza slučaja opisuje izlečenje refraktarne teške CDI pomoću fekalne transplantacije i naknadne primene fidaksomicina (322). Za postizanje uspeha ponekad je potrebno i više sukcesivnih fekalnih transplantacija (198). Kao što je i očekivano, neuspeh fekalne transplantacije i recidiv po završetku terapije češći su kod teških i komplikovanih formi bolesti i višestrukih recidiva (197).

Još jedna terapijska opcija za tešku refraktarnu CDI jeste primena vankomicina putem rektalne klizme (271,323). *Kim* i saradnici su pokazali da je kod većine bolesnika kod kojih je vankomicin na ovaj način primenjen došlo do kompletne rezolucije tegoba (323). Kod dva bolesnika došlo je do recidiva u vidu teške forme bolesti koji su se završili smrtnim ishodom (323). Među našim bolesnicima, vankomicin dat putem klizme bio je primenjen kod njih petoro, ali je izlečenje izostalo.

Ovo istraživanje ima potencijalna ograničenja. Iz istraživanja su isključeni bolesnici sa najtežim oblikom bolesti tj. oni koji su bili vitalno ugroženi pri prijemu te stoga nije ispitana efikasnost teikoplanina u toj podgrupi bolesnika. Takođe, broj bolesnika sa komplikovanom formom bolesti uključen u istraživanje je relativno mali, ali je ovaj broj i dalje među najvećim za ovu kategoriju bolesnika koji je prikazan u jednoj pojedinačnoj studiji.

Jedan od glavnih nedostataka ovog istraživanja jeste odsustvo randomizacije pri izboru terapijskog režima što ostavlja mogućnost postojanja pristrasnosti prilikom izbora terapije. Činjenica da se bolesnici lečeni teikoplaninom i vankomicinom nisu statistički značajno razlikovali u demografskim, laboratorijskim i kliničkim karakteristikama, težini bolesti, primeni pridružene antibiotske terapije i udelu bolesnika sa prethodnom epizodom CDI doprinosi validnosti dobijenih rezultata.

Takođe, broj bolesnika kod kojih je urađena ribotipizacija bio je mali, ali ubedljiva dominacija ribotipa 027 od preko 90% sa velikom verovatnoćom ukazuje da je ovaj ribotip zaista najzastupljeniji u našoj populaciji, tim pre što je ista distribucija sojeva u Srbiji dobijena i u analizi drugih autora (262).

Ovo istraživanje predstavlja do sada najveću sprovedenu studiju o primeni teikoplanina u lečenju CDI i njegovom poredjenju sa vankomicinom u pogledu ishoda bolesti i prvu u epidemijskoj eri. Poseban značaj istraživanja je u tome što su u njega uključeni isključivo bolesnici sa teškom formom bolesti uključujući i one sa komplikovanom CDI koji su uglavnom isključeni iz velikih randomizovanih kliničkih studija, a predstavljaju veliki problem u svakodnevnoj kliničkoj praksi.

Na osnovu svega navedenog, teikoplanin bi mogao biti jedna od terapijskih opcija za lečenje bolesnika sa teškom i refraktarnom CDI. Istraživanjem je pokazano da je teikoplanin bio efikasan u lečenju ne samo bolesnika sa teškom, već i sa komplikovanom formom bolesti, kao i bolesnika starijih od 65 godina, prvim recidivom CDI, pridruženom antibiotskom terapijom, a što je od posebne važnosti bio je efikasan i u lečenju bolesnika refraktarnih na standardnu terapiju.

Bolesnici lečeni teikoplaninom imali su ubedljivo manju učestalost recidiva bolesti u odnosu na one lečene vankomicinom. Povezanost teikoplanina i manje učestalosti recidiva pokazana je i kod bolesnika starijih od 65 godina, sa prvim recidivom bolesti i komplikovanom CDI. S obzirom na to da su u istraživanju ubedljivo dominirali bolesnici oboleli od ribotipa 027 *C. difficile* možemo zaključiti da je teikoplanin efikasan u lečenju i postizanju manje učestalosti recidiva i u toj podgrupi bolesnika, što je posebno značajno imajući u vidu da se ovaj ribotip povezuje se težim, refraktarnim formama CDI i češćom pojavom recidiva. Takođe, fidaksomicin, lek koji se trenutno u literaturi pokazao kao superioran u lečenju CDI, svoju superiornost nije pokazao kada je ovaj ribotip u pitanju, što bi mogla biti jedna prednost teikoplanina u odnosu na fidaksomicin. Značajno niža cena, kao i dostupnost leka su njegove dodatne prednosti.

S obzirom na to da je problem rekurentne bolesti jedan od najvećih u lečenju CDI pronalaženje terapijske opcije koja dovodi do značajno manje učestalosti recidiva važan je doprinos ovog istraživanja.

Smanjenje učestalosti recidiva moglo bi dovesti do značajnog poboljšanja kvaliteta života bolesnika, smanjenja rizika za konačan nepovoljan ishod i omogućilo bi brži oporavak bolesnika od bolesti koja je prethodila pojavi CDI.

Cena teikoplanina jeste veća od cene vankomicina, ali činjenica da bi manja učestalost recidiva smanjila i broj hospitalizacija, a samim tim i troškove lečenja, opravdava njegovu primenu u lečenju ove bolesti.

S obzirom na cenu leka i njegove dokazane prednosti u ovom istraživanju, preporuka za njegovu primenu u lečenju CDI bila bi da se ovaj antibiotik pre svega primenjuje kod bolesnika sa prethodnom epizodom CDI, zatim bolesnika koji su, na

osnovu poznatih faktora rizika, u visokom riziku za pojavu recidiva kao i kod bolesnika kod kojih bi recidiv bolesti i moguće komplikacije koje on sa sobom nosi, mogao biti posebno opasan.

Imajući u vidu da su rekurentna i refraktarna CDI izazovi u lečenju CDI sa ograničenim terapijskim mogućnostima, kao i pozitivne rezultate, ali i nedostatke našeg istraživanja, u budućnosti su potrebne dodatne, veće, poželjno randomizovane kliničke studije kako bi se procenila preciznija uloga teikoplanina u lečenju CDI.

## 6. ZAKLJUČCI

1. Bolesnici sa teškom i komplikovanom formom CDI u ovom istraživanju uglavnom su bili stariji od 65 godina, imali su raznovrsne, često i višestruke komorbiditete, u skoro polovini slučajeva bili su nepokretni, prethodno su bili bolnički lečeni i to najčešće zbog neke druge infekcije ili usled različitih hirurških intervencija.
2. Bolesnici sa komplikovanom formom bolesti činili su nešto manje od četvrtine analiziranih, pri čemu se udeo bolesnika sa komplikovanom CDI nije razlikovao u grupama bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom. Oko trećinu bolesnika činili su oni sa prethodnom epizodom CDI.
3. Najčešći simptomi bolesti su bili proliv, i to dominantno sluzave stolice, bolovi u trbuhu i povišena telesna temperatura.
4. Najveći broj bolesnika imao je leukocitozu preko  $15000/\text{mm}^3$  i hipoalbuminemiju manju od  $30\text{g/l}$ .
5. Najčešće komplikacije tokom lečenja CDI bile su bolničke infekcije, u prvom redu urinarne infekcije i pneumonije, zatim pogoršanje osnovne bolesti, progresija CDI do razvoja ileusa, nastanak duboke venske tromboze i psihoorganskog sindroma.
6. Dominantan ribotip među analiziranim izolatima bio je ribotip 027 prisutan u više od 95% slučajeva. Ostali ribotipovi bili su 001/072 i 014/020.
7. Teikoplanin se pokazao kao efikasan u lečenju teške i komplikovane CDI sa procentom izlečenja od 90,7% što je bilo statistički značajno više od procenta izlečenja postignutog primenom vankomicina (79,4%).
8. Primenom teikoplanina je postignut veći procenat izlečenja u odnosu na primenu vankomicina i u populaciji bolesnika starijih od 65 godina, sa komplikovanom formom bolesti i pridruženom antibiotskom terapijom.
9. Prosečno vreme do prestanka proliva bilo je 6 dana i nije se bitnije razlikovalo između dve terapijske grupe bolesnika. Ileus, komplikovana forma bolesti i primena pridružene antibiotske terapije bili su faktori povezani sa dužim vremenom do prestanka proliva.

10. Refraktarnost na primenu terapije bila je značajno češća pri lečenju vankomicinom u odnosu na lečenje teikoplaninom. Postojanje komplikovane forme CDI bilo je drugi faktor rizika za neuspeh terapije.
11. Učestalost smrtnog ishoda nije se značajno razlikovala između bolesnika lečenih teikoplaninom (7,5%) i vankomicinom (11,7%).
12. Sama CDI bila je neposredan uzrok smrtnog ishoda kod nešto manje od trećine bolesnika, dok su pridružene infekcije i bolesti srca bili najčešći među ostalim uzrocima smrti. Faktori rizika za smrtni ishod bili su komplikovana forma bolesti i leukocitoza preko 30000/mm<sup>3</sup>.
13. Glavna prednost teikoplanina u odnosu na vankomicin bila je ubedljivo manja učestalost recidiva CDI koja je iznosila 9,3% što je manje u odnosu na učestalost recidiva nakon bilo kog terapijskog režima opisanog u literaturi. Primena teikoplanina pokazala se kao nezavisan prediktor manje učestalosti recidiva CDI.
14. I u kategorijama bolesnika starijih od 65 godina i onih sa prvim recidivom CDI primena teikoplanina bila je praćena značajno manjom učestalošću recidiva u odnosu na terapiju vankomicinom.
15. Vreme do pojave recidiva u proseku je iznosilo 13 dana nakon lečenja teikoplaninom i 14 dana nakon lečenja vankomicinom, pri čemu nije bilo značajne razlike u vremenu do pojave recidiva bolesti između dve grupe bolesnika.
16. Teikoplanin je bio efikasan u lečenju CDI izazvane ribotipom 027 sa malom učestalošću recidiva.
17. Teikoplanin je bio uspešan i u lečenju bolesnika sa CDI refraktarnom na primenu vankomicina i metronidazola, kako kod bolesnika sa teškom tako i onih sa komplikovanom formom bolesti, sa malom učestalošću recidiva nakon osmonedeljnog perioda praćenja.

## 7. LITERATURA

1. Hall IC, O Toole E. Intestinal flora in newborn infants with a description of a new pathogenic anaerobe, *Bacillus difficilis*. *Am J Dis Child* 1935; 49:390-402.
2. Bartlett J. G, Chang T. W, Gurwith M, Gorbach S. L, Onderdonk A. B. Antibiotic-associated pseudomembranous colitis due to toxin-producing clostridia. *N Engl J Med* 1978; 298:531–534.
3. Warny M, Pepin J, Fang A, Killgore G, Thompson A, Brazier J, et al. Toxin production by an emerging strain of *Clostridium difficile* associated with outbreaks of severe disease in North America and Europe. *Lancet* 2005; 366:1079–84.
4. Jangi S, Lamont JT. Asymptomatic colonization by *Clostridium difficile* in infants: implications for disease in later life. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2010;51(1):2-7.
5. Kazanowski M, Smolarek S, Kinnarey F, Grzebieniak Z. *Clostridium difficile*: epidemiology, diagnostic and therapeutic possibilities-a systematic review. *Tech Koloproctol* 2014; 18:223-232.
6. Benno Y, Sawada K, Mitsuoka T. The intestinal microflora of infants: composition of fecal flora in breast-fed and bottle-fed infants. *Microbiol Immunol* 1984; 28:975-986.
7. Hutin Y, Casin I, Lesprit P, Welker Y, Decazes JM, Lagrange P, et al. Prevalence of and risk factors for *Clostridium difficile* colonization at admission to an infectious diseases ward. *Clin Infect Dis* 1997; 24(5):920-4.
8. Leekha S, Aronhalt KC, Sloan LM, Patel R, Orenstein R. Asymptomatic *Clostridium difficile* colonization in a tertiary care hospital: admission prevalence and risk factors. *Am J Infect Control* 2013; 41:390–3.
9. Loo VG, Bourgault AM, Poirier L, Lamothe F, Michaud S, Turgeon N, et al. Host and pathogen factors for *Clostridium difficile* infection and colonization. *N Engl J Med* 2011;365:1693–703.

10. Galdys AL, Nelson JS, Shutt KA, Schlackman JL, Pakstis DL, Pasculle AW et al. Prevalence and duration of asymptomatic *Clostridium difficile* carriage among healthy subjects in Pittsburgh, Pennsylvania. *J Clin Microbiol* 2014; 52(7):2406-9.
11. Clabots CR, Johnson S, Olson MM, Peterson LR, Gerding DN. Acquisition of *Clostridium difficile* by hospitalized patients: evidence for colonized new admissions as a source of infection. *J Infect Dis* 1992; 166:561–7.
12. Schoevaerdts D, Swine C, Verroken A, Huang TD, Glupczynski Y. Asymptomatic colonization by *Clostridium difficile* in older adults admitted to a geriatric unit: a prospective cohort study. *J Am Geriatr Soc* 2011;59:2179–81.
13. Prechter F, Katzer K, Bauer M, Stallmach A. Sleeping with the enemy: *Clostridium difficile* infection in the intensive care unit. *Crit Care* 2017; 21: 260.
14. Kato H, Kita H, Karasawa T, Maegawa T, Koino Y, Takakuwa H, et al. Colonisation and transmission of *Clostridium difficile* in healthy individuals examined by PCR ribotyping and pulsed-field gel electrophoresis. *J Med Microbiol* 2001; 50(8):720–727.
15. Van Nood E, van Dijk K, Hegeman Z, Speelman P, Visser CE. Asymptomatic carriage of *Clostridium difficile* among HCWs: do we disregard the doctor? *Infect Control Hosp Epidemiol* 2009;30 (9):924–925.
16. Mc Farland LV, Elmer GW, Surawicz CM. Breaking the cycle: treatment strategies for 163 cases of recurrent *Clostridium difficile* disease. *Am J Gastroenterol* 2002; 97:1769-1775.
17. Poutanen SM, Simor AE. *Clostridium difficile*-associated diarrhoea in adults. *CMAJ* 2004; 171:51-58.
18. Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P ESCMID Study Group for *Clostridium difficile*; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of *Clostridium difficile*-associated disease in North America and Europe. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12(Suppl 6):2–18.
19. Pothoulakis C. Pathogenesis of *Clostridium difficile*-associated diarrhoea. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1996; 8:1041–1047.



20. Pothoulakis C. Microbes and microbial toxins: paradigms for microbial–mucosal interactions. II. The integrated response of the intestine to *Clostridium difficile* toxins. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 280: G178–G183
21. Savidge TC, Pan WH, Newman P, O'Brien M, Anton PM, Pothoulakis C. *Clostridium difficile* toxin B is an inflammatory enterotoxin in human intestine. *Gastroenterology* 2003; 125:413–420.
22. Davies AH, Roberts AK, Shone CC, Acharya KR. Super toxins from a super bug: structure and function of *Clostridium difficile* toxins. *Biochem J* 2011;436:517–26.
23. McDonald LC, Killgore GE, Thompson A, Owens RC Jr, Kazakova SV, Sambol SP, et al. An epidemic, toxin gene-variant strain of *Clostridium difficile*. *N Engl J Med* 2005; 353:2433-41.
24. Goorhuis A, Bakker D, Corver J, Debast SB, Harmanus C, Notermans DW, et al. Emergence of *Clostridium difficile* infection due to a new hypervirulent strain, polymerase chain reaction ribotype 078. *Clin Infect Dis* 2008; 47:1162-70.
25. Debast SB, van Leengoed LA, Goorhuis A, Harmanus C, Kuijper EJ, Bergwerff AA. *Clostridium difficile* PCR ribotype 078 toxinotype V found in diarrhoeal pigs identical to isolates from affected humans. *Environ Microbiol* 2009; 11: 505-511.
26. Barbut F, Gariazzo B, Bonne L, Lalande V, Burghoffer B, Luiuz R, et al. Clinical features of *Clostridium difficile*-associated infections and molecular characterization of strains: results of a retrospective study, 2000-2004. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2007; 28: 131-9.
27. Qa'Dan M, Ramsey M, Daniel J, Spyres LM, Safiejko-Mroccka B, Ortiz-Leduc W, Ballard JD. *Clostridium difficile* toxin B activates dual caspase-dependent and caspase-independent apoptosis in intoxicated cells. *Cell Microbiol* 2002; 4:425–434.
28. Kim H, Kokkotou E, Na X, Rhee S H, Moyer MP, Pothoulakis C, LaMont JT. *Clostridium difficile* toxin A-induced colonocyte apoptosis involves p53-dependent p21 (WAF1/CIP1) induction via p38 mitogen-activated protein kinase. *Gastroenterology* 2005; 129:1875–1888.

29. Nottrott S, Schoentaube J, Genth H, Just I, Gerhard R. *Clostridium difficile* toxin A-induced apoptosis is p53-independent but depends on glucosylation of Rho GTPases. *Apoptosis* 2007; 12:1443–1453.
30. Warny M, Kelly CP. Monocytic cell necrosis is mediated by potassium depletion and caspase-like proteases. *Am J Physiol* 1999; 276: C717–724.
31. Feltis B A, Wiesner SM, Kim AS, Erlandsen SL, Lyerly DL, Wilkins T et al. *Clostridium difficile* toxins A and B can alter epithelial permeability and promote bacterial paracellular migration through HT-29 enterocytes. *Shock* 2000; 14:629–634
32. Johal SS, Solomon K, Dodson S, Borriello, SP, Mahida YR. Differential effects of varying concentrations of *Clostridium difficile* toxin A on epithelial barrier function and expression of cytokines. *J Infect Dis* 2004; 189:2110–19.
33. Poutanen SM, Simor AE. *Clostridium difficile*-associated diarrhea in adults. *CMAJ* 2004, 171(1): 51-58.
34. Lyerly DM, Krivan H C, Wilkins TD. *Clostridium difficile*: its disease and toxins. *Clin Microbiol Rev* 1988;1:1–18.
35. Riegler M, Sedivy R, Pothoulakis C, Hamilton G, Zacherl J, Bischof G, et al. *Clostridium difficile* toxin B is more potent than toxin A in damaging human colonic epithelium in vitro. *J Clin Invest* 1995; 95:2004-11.
36. Sambol SP, Merrigan MM, Lyerly D, Gerding DN, Johnson S. Toxin gene analysis of a variant strain of *Clostridium difficile* that causes human clinical disease. *Infect Immun* 2000; 68:5480–7.
37. Pruitt RN, Lacy DB. Toward a structural understanding of *Clostridium difficile* toxins A and B. *Front Cell Infect Microbiol* 2012; 2:28.
38. Feldman RJ, Kallich M, Weinstein MP. Bacteremia due to *Clostridium difficile*: case report and review of extraintestinal *C. difficile* infections. *Clin Infect Dis* 1995; 20(6):1560-2.

39. Libby DB, Bearman G. Bacteremia due to *Clostridium difficile*--review of the literature. *Int J Infect Dis* 2009;13(5):e305-9.
40. Bartlett JG, Chang TW, Moon N, Onderdonk AB. Antibiotic-induced lethal enterocolitis in hamsters: studies with eleven agents and evidence to support the pathogenic role of toxin-producing Clostridia. *Am J Vet Res* 1978; 39: 1525–1530.
41. Qualman SJ, Petric M, Karmali MA, Smith CR, Hamilton SR. *Clostridium difficile* invasion and toxin circulation in fatal pediatric pseudomembranous colitis. *Am J Clin Pathol* 1990; 94: 410–416.
42. Steele J, Chen K, Sun X, Zhang Y, Wang H, Tzipori S, et al. Systemic dissemination of *Clostridium difficile* toxins A and B is associated with severe, fatal disease in animal models. *J Infect Dis* 2012; 205: 384–391.
43. Steele J, Feng H, Parry N, Tzipori S. Piglet models of acute or chronic *Clostridium difficile* illness. *J Infect Dis* 2010; 201: 428–434.
44. Hamm EE, Voth DE, Ballard JD. Identification of *Clostridium difficile* toxin B cardiotoxicity using a zebrafish embryo model of intoxication. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2006;103(38):14176-14181.
45. 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.
46. Stabler RA, He M, Dawson L, Martin M, Valiente E, Corton C, et al. Comparative genome and phenotypic analysis of *Clostridium difficile* 027 strains provides insight into the evolution of a hypervirulent bacterium. *Genome Biol* 2009; 10:R102.
47. Wilcox MH, Shetty N, Fawley WN, Shemko M, Coen P, Birtles A. Changing epidemiology of *Clostridium difficile* infection following the introduction of a national ribotyping-based surveillance scheme in England. *Clin Infect Dis* 2012; 55(8):1056-63.
48. Hensgens MP, Goorhuis A, Notermans DW, van Benthem BH, Kuijper EJ. Decrease of hypervirulent *Clostridium difficile* PCR ribotype 027 in the Netherlands. *Euro Surveill* 2009; 14:pii 19402.

49. Sorg JA, Sonenshein AL. Bile salts and glycine as cogerminants for *Clostridium difficile* spores. *J Bacteriol* 2008; 190:2505–12.
50. Sorg JA, Sonenshein AL. Chenodeoxycholate is an inhibitor of *Clostridium difficile* spore germination. *J Bacteriol* 2009; 191:1115-1117.
51. Barketi-Klai A, Hoys S, Lambert-Bordes S, Collignon A, Kansau I. Role of fibronectin-binding protein A in *Clostridium difficile* intestinal colonization. *J Med Microbiol* 2011;60:1155–61.
52. Calabi E, Ward S, Wren B, Paxton T, Panico M, Morris H, et al. Molecular characterization of the surface layer proteins from *Clostridium difficile*. *Mol Microbiol* 2001; 40:1187–99.
53. Reynolds CB, Emerson JE, de la Riva L, Fagan RP, Fairweather NF. The *Clostridium difficile* cell wall protein CwpV is antigenically variable between strains, but exhibits conserved aggregation-promoting function. *PLoS Pathog* 2011; 7:e1002024.
54. MacFarlane GT, MacFarlane S. Bacteria, colonic fermentation, and gastrointestinal health. *J AOAC Int* 2012; 95(1):50–60.
55. Rea MC, Sit CS, Clayton E, O'Connor PM, Whittall RM, Zheng J, et al. Thuricin CD, a posttranslationally modified bacteriocin with a narrow spectrum of activity against *Clostridium difficile*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107:9352–9357.
56. Chang DE, Smalley DJ, Tucker DL, Leatham MP, Norris WE, Stevenson SJ, et al. Carbon nutrition of *Escherichia coli* in the mouse intestine. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101:7427–7432.
57. Jarchum I, Liu M, Lipuma L, Pamer EG. Toll-like receptor-5 stimulation protects mice from acute *Clostridium difficile* colitis. *Infect Immun* 2011; 79:1498–1503.
58. Britton RA, Young VB. Interaction between the intestinal microbiota and host in *Clostridium difficile* colonization resistance. *Trends Microbiol* 2012; 20(7):313-9.

59. Rea M.C, O'Sullivan O, Shanahan F, O'Toole PW, Stanton C, Ross RP, et al. *Clostridium difficile* carriage in elderly subjects and associated changes in the intestinal microbiota. *J Clin Microbiol* 2012; 50:867–875.
60. Zhang L, Dong D, Jiang C, Li Z, Wang X, Peng Y. Insight into alteration of gut microbiota in *Clostridium difficile* infection and asymptomatic *C. difficile* colonization. *Anaerobe* 2015; 34:1–7.
61. Hopkins M.J, Macfarlane G.T. Changes in predominant bacterial populations in human faeces with age and with *Clostridium difficile* infection. *J Med Microbiol* 2002; 51:448–454.
62. Skraban J, Dzeroski S, Zenko B, Mongus D, Gangl S, Rupnik M. Gut microbiota patterns associated with colonization of different *Clostridium difficile* ribotypes. *PLoS ONE* 2013; 8:e58005.
63. Vesteyndottir I, Gudlaugsdottir S, Einarsdottir R, Kalaitzakis E, Sigurdardottir O, Bjornsson ES. Risk factors for *Clostridium difficile* toxin-positive diarrhea: A population-based prospective case-control study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012; 31:2601–2610.
64. Monaghan T, Boswell T, Mahida YR. Recent advances in *Clostridium difficile*-associated disease. *Gut* 2008; 57:850-860.
65. Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, Kelly CP, Loo VG, McDonald LC, et al. Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults: 2010 update by the society of healthcare epidemiology of America (SHEA) and the infectious diseases society of america (IDSA). *Infect Control Hosp Epidemiol* 2010; 31:431–455.
66. Johnson S. Recurrent *Clostridium difficile* infection: a review of risk factors, treatments, and outcomes. *J Infect* 2009; 58:403–410.
67. Kwok CS, Arthur AK, Anibueze CI, Singh S, Cavallazzi R, Loke YK. Risk of *Clostridium difficile* infection with acid suppressing drugs and antibiotics: meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1011 – 9.

68. Dial S, Delaney JA, Schneider V, Suissa S. Proton pump inhibitor use and risk of community-acquired *Clostridium difficile*-associated disease defined by prescription for oral vancomycin therapy. *CMAJ* 2006; 175(7):745–748.
69. Vesper BJ, Jawdi A, Altman KW, Haines GK 3rd, Tao L, Radosevich JA. The effect of proton pump inhibitors on the human microbiota. *Curr Drug Metab* 2009; 10(1):84–89.
70. Chopra T, Alangaden GJ, Chandrasekar P. *Clostridium difficile* infection in cancer patients and hematopoietic stem cell transplant recipients. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2010; 8:1113–1119.
71. Berg AM, Kelly CP, Farraye FA. *Clostridium difficile* infection in the inflammatory bowel disease patient. *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19(1):194–204.
72. Eddi R, Malik MN, Shakrov R, Baddoura WJ, Chandran C, Debari VA. Chronic kidney disease as a risk factor for *Clostridium difficile* infection. *Nephrology* 2010; 15:471–475.
73. Raines DL, Lopez FA. *Clostridium difficile* infection in non-HIV-immunocompromised patients and in HIV-infected patients. *Curr Gastroenterol Rep* 2011; 13:344–350.
74. Boutros M, Al-Shaibi M, Chan G, Cantarovich M, Rahme E, Paraskevas S, et al. *Clostridium difficile* colitis: increasing incidence, risk factors, and outcomes in solid organ transplant recipients. *Transplantation* 2012; 93:1051–1057.
75. Dubberke ER, Riddle DJ. *Clostridium difficile* in solid organ transplant recipients. *Am J Transplant* 2009; 9(Suppl 4):s35–s40.
76. Navaneethan U, Venkatesh PGK, Shen B. *Clostridium difficile* infection in inflammatory bowel disease—understanding the evolving relationship. *World J Gastroenterol* 2010; 16:4892–4904.
77. Surawicz CM, Brandt LJ, Binion DG, Ananthakrishnan AN, Curry SR, Gilligan PH, et al. Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* infections. *Am J Gastroenterol* 2013; 108:478–498.

78. Finney JMT. Gastroenterostomy for cicatrizing ulcer of the pylorus. *Bull Johns Hopkins Hosp* 1893; 4:53-55.
79. Cohen LE, Mc Neill CJ, Wells RF. Clindamycin-associated colitis. *JAMA* 1973; 223: 1379-1380.
80. Lyytikäinen O, Turunen H, Sund R, Rasinperä M, Könönen E, Ruutu P, Keskimäki I. Hospitalizations and deaths associated with *Clostridium difficile* infection, Finland, 1996-2004. *Emerg Infect Dis* 2009; 15:761-765.
81. Soes L, Molbak K, Strobaek S, Truberg Jensen K, Torpdahl M, Persson S, et al. The emergence of *Clostridium difficile* PCR ribotype 027 in Denmark-a possible link with the increased consumption of fluoroquinolones and cephalosporins? *Euro Surveill* 2009; 14:pii:19176.
82. Soler P, Nogareda F, Cano R. Rates of *Clostridium difficile* infection in patients discharged from Spanish hospitals 1997-2005. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008; 29:887-9.
83. Vonberg RP, Schwab F, Gastmeier P. *Clostridium difficile* in discharged inpatients, Germany. *Emerg Infect Dis* 2007; 13:179-180.
84. Bauer MP, Noretmans DW, van Bethem BH, Brazier JS, Wilcox MH, Rupnik M, et al. *Clostridium difficile* infection in Europe: a hospital-based survey. *Lancet* 2011; 377:63-73.
85. Archibald LK, Banerjee SN, Jarvis WR. Secular trends in hospital-acquired *Clostridium difficile* disease in the United States, 1987-2001. *J Infect Dis* 2004; 189:1585-9.
86. Pepin J, Valiquette L, Alary ME, Villemure P, Pelletier A, Forge K, et al. *Clostridium-difficile* associated diarrhoea in a region of Quebec from 1991 to 2003: a changing pattern of disease severity. *CMAJ* 2004; 171:466-72.
87. Public Health England (PHE). *Clostridium difficile* Ribotyping Network (CDRN) for England and Northern Ireland. 2011-13 report. London: PHE; 2014. Available from:

[https://www.gov.uk/government/uploads/attachment\\_data/file/329156/C\\_difficile:ribotyping\\_n](https://www.gov.uk/government/uploads/attachment_data/file/329156/C_difficile:ribotyping_n)

88. Kuijper EJ, van Dissel JT. Spectrum of *Clostridium difficile* infections outside health care facilities. *CMAJ* 2008; 179:747-8.

89. Khanna S, Pardi DS. *Clostridium difficile* infection: management strategies for a difficult disease. *Ther Adv Gastroenterol* 2014; 7(2):72-86.

90. Jhung M, Thompson A, Killgore G, Zukowski WE, Songer G, Warny M, et al. Toxinotype V *Clostridium difficile* in humans and food animals. *Emerg Infect Dis* 2008, 14:1039-1045.

91. Wesse J, Reid-Smith R, Avery B, Rousseau J. Detection and characterization of *Clostridium difficile* in retail chicken. *Lett Appl Microbiol* 2010; 50:362-365.

92. Otten A, Reid-Smith R, Fazil A, Wesse J. Disease transmission model for community-associated *Clostridium difficile* infection. *Epidemiol Infect* 2010; 138:907-914.

93. Khanna S, Pardi DS, Aronson SL, Kammer PP, Orenstein R, St Sauver JL, et al. The epidemiology of community-acquired *Clostridium difficile* infection: a population-based study. *Am J Gastroenterol* 2012; 107:89–95.

94. Davies KA, Ashwin H, Longshaw CM, Burns DA, Davis GL, Wilcox MH, EUCLID study group. Diversity of *Clostridium difficile* ribotypes in Europe: results from the European, multicentre, prospective, biannual, point-prevalence study of *Clostridium difficile* infection in hospitalised patients with diarrhoea (EUCLID), 2012 and 2013. *Euro Surveill* 2016; 21(29):pii:30294.

95. Tang P, Roscoe M, Richardson SE. Limited clinical utility of *Clostridium difficile* toxin testing in infants in a pediatric hospital. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005;52:91–94.

96. Crobach, M.J.T, Planche T, Eckert C, Barbut F, Terveer EM, Dekkers OM, et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the diagnostic guidance document for *Clostridium difficile* infection. *CMI* 2016; 22(4):S63 - S81.



97. Martínez-Meléndez A, Camacho-Ortiz A, Morfin-Otero R, Maldonado-Garza HJ, Villarreal-Treviño L, Garza-González E. Current knowledge on the laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* infection. *World J Gastroenterol* 2017;23(9):1552-1567.
98. Lister M, Stevenson E, Heeg D, Minton NP, Kuehne SA. Comparison of culture based methods for the isolation of *Clostridium difficile* from stool samples in a research setting. *Anaerobe* 2014;28:226–229.
99. Planche T, Wilcox M. Reference assays for *Clostridium difficile* infection: one or two gold standards? *J Clin Pathol* 2011; 64:1–5.
100. She RC, Durrant RJ, Petti CA. Evaluation of enzyme immunoassays to detect *Clostridium difficile* toxin from anaerobic stool culture. *Am J Clin Pathol* 2009;131:81–84.
101. Freeman J, Wilcox MH. The effects of storage conditions on viability of *Clostridium difficile* vegetative cells and spores and toxin activity in human faeces. *J Clin Pathol* 2003; 56:126–128.
102. Girinathan BP, Braun SE, Govind R. *Clostridium difficile* glutamate dehydrogenase is a secreted enzyme that confers resistance to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Microbiology* 2014; 160:47–55.
103. Carman RJ, Wickham KN, Chen L, Lawrence AM, Boone JH, Wilkins TD, et al. Glutamate dehydrogenase is highly conserved among *Clostridium difficile* ribotypes. *J Clin Microbiol* 2012;50:1425–1426.
104. Difclir-Fidaxomicin. Product Monograph. Chapter 2. Microbiology, epidemiology and management of CDI. p31.
105. Goudarzi M, Seyedjavadi SS, Goudarzi H, Mehdizadeh Aghdam E, Nazeri S. *Clostridium difficile* Infection: Epidemiology, Pathogenesis, Risk Factors, and Therapeutic Options. *Scientifica (Cairo)* 2014; 2014:916826.
106. Adams D, Mercer W. Fulminant *Clostridium difficile* colitis. *Curr Opin Crit Care* 2007; 13:450-455.
107. Wanahita A, Goldsmith A, Marino J, Musher DM. *Clostridium difficile* infection in patients with unexplained leucocytosis. *Am J Med* 2003; 115:543-546.

108. Dallal M, Harbrecht G, Bojoukas J, Sirio CA, Farkas LM, Lee KK, Simmons RL. Fulminant *Clostridium difficile*: an underappreciated and increasing cause of death and complications. *Ann Surg* 2001; 235:363-372.

109. Debast SB, Bauer MP, Kuijper EJ; European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases Collaborators (13). European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the treatment guidance document for *Clostridium difficile* infection. *Clin Microbiol Infect* 2014; Suppl 2: 1-26.

110. Bauer, M.P, Kuijper EJ, van Dissel JT. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): treatment guidance document for *Clostridium difficile* infection (CDI). *CMI* 2009; 15(12):1067 – 1079.

111. Cornely OA, Crook DW, Esposito R, Poirier A, Somero MS, Weiss K, et al. 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):281-9.

112. Dubberke ER, Olsen MA. Burden of *Clostridium difficile* on the healthcare system. *Clin Infect Dis* 2012; 55(Suppl 2):S88–S92.

113. Louie TJ, Miller MA, Mullane KM, Weiss K, Lentnek A, Golan Y, et al. OPT-80-003 Clinical Study Group Fidaxomicin versus vancomycin for *Clostridium difficile* infection. *N Engl J Med* 2011; 364: 422–431.

114. Young GP, Ward PB, Bayley N, Gordon D, Higgins G, Trapani JA, et al. Antibiotic-associated colitis due to *Clostridium difficile*: double-blind comparison of vancomycin with bacitracin. *Gastroenterology* 1985; 89:1038.

115. DuPont AW. Postinfectious Irritable Bowel Syndrome. *Clin Infect Dis* 2008; 46(4):594–599.

116. Rodríguez LA, Ruigómez A. Increased risk of irritable bowel syndrome after bacterial gastroenteritis: cohort study. *BMJ* 1999; 318(7183):565-6.

117. Zanini B, Ricci C, Bandera F, Caselani F, Magni A, Laronga AM, et al. Incidence of post-infectious irritable bowel syndrome and functional intestinal disorders following a water-borne viral gastroenteritis outbreak. *Amer J Gastroenterol* 2012; 107:891–899.

118. Hanevik K, Dizdar V, Langeland N, Hausken T. Development of functional gastrointestinal disorders after *Giardia lamblia* infection. *BMC Gastroenterol* 2009; 9:27.

119. Neal KR, Hebden J, Spiller R. Prevalence of gastrointestinal symptoms six months after bacterial gastroenteritis and risk factors for development of the irritable bowel syndrome: Postal survey of patients. *BMJ* 1997;314:779–82.

120. Piche T, Vanbiervliet G, Pipau FG, Dainese R, Hébuterne X, Rampal P, Collins SM. Low risk of irritable bowel syndrome after *Clostridium difficile* infection. *Can J Gastroenterol* 2007; 21(11): 727–731.

121. Wadhwa A, AlNahas M, Dierkhising R, Patel R, Kashyap P, Pardi DS, et al. High risk of post-infectious irritable bowel syndrome in patients with *Clostridium difficile* infection. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2016; 44(6):576-582.

122. Sethi S, Garey KW, Arora V, Ghantoji S, Rowan P, Smolensky M, et al. Increased rate of irritable bowel syndrome and functional gastrointestinal disorders after *Clostridium difficile* infection. *J Hosp Infect* 2011; 77:172–173.

123. Public Health England. Updated guidance on the management and treatment of *Clostridium difficile* infection. Available at: [https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment\\_data/file/321891/Clostridium\\_difficile\\_management\\_and\\_treatment.pdf](https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/321891/Clostridium_difficile_management_and_treatment.pdf)

124. Uputstvo za lek ORVAGIL, 500mg/100mL, rastvor za infuziju. Available at: <https://www.alims.gov.rs/ciril/files/lekovi/pil/515-01-0853-12-001.pdf>

125. Ralph, E.D. Clinical Pharmacokinetics of Metronidazole. *Clin Pharmacokinet* 1983; 8: 43.

126. Sažetak karakteristika leka VANCOMYCIN ENTEROCAPS® (vankomicin), 250 mg. Available at: <https://www.alims.gov.rs/ciril/files/lekovi/smpc/515-01-2773-10-001.pdf>

127. FIRVANQ™ (vancomycin hydrochloride), for oral solution. Prescribing information. Willmington, MA: Cutis Pharma, Inc. 2018.

128. Gonzales M, Pepin J, Frost EH, Carrier JC, Sirard S, Fortier LC, Valiquette L. Faecal pharmacokinetics of orally administered vancomycin in patients with suspected *Clostridium difficile* infection. *BMC Infect Dis* 2010; 10:363.

129. McDonald LC, Gerding DN, Johnson S, Bakken JS, Carroll KC, Coffinet SE, et al. Clinical Practice Guidelines for *Clostridium difficile* Infection in Adults and Children: 2017 Update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA). *Clin Infect Dis* 2018; Feb 15. doi: 10.1093/cid/cix1085. Epub ahead of print

130. Herpers BL, Vlamincx B, Burkhardt O, Blom H, Biemond-Moeniralam HS, Hornef M, et al. Intravenous tigecycline as adjunctive or alternative therapy for severe refractory *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis* 2009; 48:1732–1735.

131. McPherson S, Rees CJ, Ellis R, Soo S, Panter SJ. Intravenous immunoglobulin for the treatment of severe, refractory, and recurrent *Clostridium difficile* diarrhea. *Dis Colon Rectum* 2006; 49:640–5.

132. Neal MD, Alverdy JC, Hall DE, Simmons RL, Zuckerbraun BS. Diverting loop ileostomy and colonic lavage: an alternative to total abdominal colectomy for the treatment of severe, complicated *Clostridium difficile* associated disease. *Ann Surg* 2011; 254:423–7; discussion 427–9.

133. Lamontagne F, Labbé AC, Haeck O, Lesur O, Lalancette M, Patino C, et al. Impact of emergency colectomy on survival of patients with fulminant *Clostridium difficile* colitis during an epidemic caused by a hypervirulent strain. *Ann Surg* 2007; 245:267–72.

134. Targocid- summary of product characteristics, labelling and package leaflet. Available at: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Referrals\\_document/Targocid\\_30/WC500143825.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Referrals_document/Targocid_30/WC500143825.pdf)

135. Pantosti A, Luzzi I, Cardines R, Gianfrilli P. Comparison of the in vitro activities of teicoplanin and vancomycin against *Clostridium difficile* and their interactions with cholestyramine. *Antimicrob Agents Chemother* 1985; 28: 847-848
136. De Lalla, Privitera G, Rinaldi E, Ortisi G, Santoro D, Rizzardini G. Treatment of *Clostridium difficile*-Associated Disease with Teicoplanin. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; 33(7):1125-27
137. De Lalla F, Nicolini R, Rinaldi E, Scarpellini P, Rigoli R, Manfrin V, Tramarin A. A Prospective study of oral teicoplanin versus oral vancomycin for therapy of pseudomembranous colitis and *Clostridium difficile*-associated diarrhoea. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36: 2192-2196.
138. Wenisch C, Parschalk B, Hasenhüdl M, Hirschl AM, Graninger W. Comparison of vancomycin, teicoplanin, metronidazole, and fusidic acid for the treatment of *Clostridium difficile*-associated diarrhoea. *Clin Infect Dis* 1996; 22(5): 813-818. Erratum in: *Clin Infect Dis* 1996; 23(2):423.
139. Sullivan KM, Spooner LM. Fidaxomicin: a macrocyclic antibiotic for the management of *Clostridium difficile* infection. *Ann Pharmacother* 2010; 44:352–9.
140. Babakhani F, Bouillaut L, Sears P, Sims C, Gomez A, Sonenshein AL. Fidaxomicin inhibits toxin production in *Clostridium difficile*. *J Antimicrob Chemother* 2013; 68:515-522.
141. Babakhani F, Bouillaut L, Gomez A, Sears P, Nguyen L, Sonenshein AL. Fidaxomicin inhibits spore production in *Clostridium difficile*. *Clin Infect Dis* 2012; 55:S162-169.
142. Babakhani F, Gomez A, Robert N, Sears P. Postantibiotic effect of fidaxomicin and its major metabolite, OP-1118, against *Clostridium difficile*. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55:4427-4429.
143. Tannock GW, Munro K, Taylor C, Lawley B, Young W, Byrne B, et al. A new macrocyclic antibiotic, fidaxomicin (OPT-80), causes less alteration to the bowel microbiota

of *Clostridium difficile*-infected patients than does vancomycin. *Microbiology* 2010; 156:3354-3359.

144.Louie TJ, Emery J, Krulicki W, Byrne B, Mah M. OPT-80 eliminates *Clostridium difficile* and is sparing of Bacteroides species during treatment of *C. difficile* infection. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53:261-263.

145.Finegold SM, Molitoris D, Vaisanen ML, Song Y, Liu C, Bolaños M. In vitro activities of OPT-80 and comparator drugs against intestinal bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48:4898-902.

146.Dificid (Fidaxomicin). Available at: [http://www.merck.com/product/usa/pi\\_circulars/d/dificid/dificid\\_pi.pdf](http://www.merck.com/product/usa/pi_circulars/d/dificid/dificid_pi.pdf)

147.Tygacil – summary of product characteristics. Available at: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/EPAR\\_-\\_Product\\_Information/human/000644/WC500044508.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000644/WC500044508.pdf)

148.Britt NS, Steed ME, Potter EM, Clough LA. Tigecycline for the treatment of severe and severe complicated *Clostridium difficile* infection. *Infect Dis Ther* 2014; 3(2):321-31.

149.Lu CL, Liu CY, Liao CH, Huang YT, Wang HP, Hsueh PR. Severe and refractory *Clostridium difficile* infection successfully treated with tigecycline and metronidazole. *Int J Antimicrob Agents* 2010; 35(3):311-2.

150.Lao D, Chiang T, Gomez E. Refractory *Clostridium difficile* Infection successfully treated with tigecycline, rifaximin, and vancomycin. *Case Rep Med* 2012; 2012: 1-3.

151.Larson K, Belliveau P, Spooner L. Tigecycline for the treatment of severe *Clostridium difficile* infection. *Ann Pharmacother* 2011; 45:1005-1010.

152.El-Herte RI, Baban TA, Kanj SS. Recurrent refractory *Clostridium difficile* colitis treated successfully with rifaximin and tigecycline: A case report and review of the literature. *Scand J Infect Dis* 2011; 44:228-30.

153.Garey KW, Salazar M, Shah D, Rodrigue R, DuPont HL. Rifamycin antibiotics for treatment of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Ann Pharmacother* 2008; 42:827–35.

154. Marchese A, Salerno A, Pesce A, Debbia EA, Schito GC. In vitro activity of rifaximin, metronidazole and vancomycin against *Clostridium difficile* and the rate of selection of spontaneously resistant mutants against representative anaerobic and aerobic bacteria, including ammonia-producing species. *Chemotherapy* 2000; 46:253–66.

155. Rifaximin. Available at: <https://www.drugs.com/monograph/rifaximin.html>

156. Basu P, Dinani A, Rayapudi K, Pacana T, Shah NJ, Hampole H, et al. Rifaximin therapy for metronidazole-unresponsive *Clostridium difficile* infection: a prospective pilot trial. *Therap Adv Gastroenterol* 2010; 3:221–5.

157. Garey KW, Jiang ZD, Bellard A, Dupont HL. Rifaximin in treatment of recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhea: an uncontrolled pilot study. *J Clin Gastroenterol* 2009; 43:91–3.

158. Johnson S, Schriever C, Galang M, Kelly CP, Gerding DN. Interruption of recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhea episodes by serial therapy with vancomycin and rifaximin. *Clin Infect Dis* 2007; 33:846–8.

159. Fox LM, Saravolatz LD. Nitazoxanide: a new thiazolide antiparasitic agent. *Clin Infect Dis*. 2005; 40:1173–80.

160. Musher DM, Logan N, Bressler AM, Johnson DP, Rossignol JF. Nitazoxanid versus vancomycin in *Clostridium difficile* infection: a randomized, double-blind study. *Clin Infect Dis* 2009; 48: e41-e46.

161. Musher DM, Logan N, Hamill RJ, Dupont HL, Lentnek A, Gupta A, Rossignol JF. Nitazoxanide for the treatment of *Clostridium difficile* colitis. *Clin Infect Dis* 2006; 43:421–7.

162. Musher DM, Logan N, Mehendiratta V, Melgarejo NA, Garud S, Hamill RJ. *Clostridium difficile* colitis that fails conventional metronidazole therapy: response to nitazoxanide. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59:705–10.

163. Cornick NA, Silva M, Gorbach SL. In vitro antibacterial activity of bismuth subsalicylate. *Rev Infect Dis* 1990; 12(Suppl 1):S9–10.

164. Gorbach SL, Cornick NA, Silva M. Effect of bismuth subsalicylate on fecal microflora. *Rev Infect Dis* 1990; 12(Suppl 1):S21–3.

165. Musgrave CR, Bookstaver PB, Sutton SS, Miller AD. Use of alternative or adjuvant pharmacologic treatment strategies in the prevention and treatment of *Clostridium difficile* infection. *Int J Infect Dis* 2011; 15(7):e438-48.

166. Peláez T, Alcalá L, Alonso R, Martín-López A, García-Arias V, Marín M, Bouza E. In vitro activity of ramoplanin against *Clostridium difficile*, including strains with reduced susceptibility to vancomycin or with resistance to metronidazole. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 49:1157–9.

167. Fulco P, Wenzel RP. Ramoplanin: a topical lipoglycopeptide antibacterial agent. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2006; 4:939–45.

168. Freeman J, Baines SD, Jabes D, Wilcox MH. Comparison of the efficacy of ramoplanin and vancomycin in both in vitro and in vivo models of clindamycin-induced *Clostridium difficile* infection. *J Antimicrob Chemother* 2005; 56:717–725.

169. Locher HH, Caspers P, Bruyère T, Schroeder S, Pfaff P, Knezevic A, et al. Investigations of the mode of action and resistance development of cadazolid, a new antibiotic for the treatment of *Clostridium difficile* infections. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58:901–908.

170. Locher HH, Seiler P, Chen X, Schroeder S, Pfaff P, Enderlin M, et al. In vitro and in vivo antibacterial evaluation of cadazolid, a new antibiotic for the treatment of *Clostridium difficile* infections. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58:892–900.

171. Baines S, Crowther G, Todhunter S, et al. In vitro activity of cadazolid (ACT-179811) against *Clostridium difficile* and in an in vitro gut model of *C. difficile* infection, abstr B-662. Abstr 52<sup>nd</sup> Intersci Conf Antimicrob Agents Chemother, San Francisco, CA. American Society for Microbiology, Washington, DC, 2012.

172. Baldoni D, Gutierrez M, Timmer W, Dingemans J. Cadazolid, a novel antibiotic with potent activity against *Clostridium difficile*: safety, tolerability and pharmacokinetics in



healthy subjects following single and multiple oral doses. *J Antimicrob Chemother* 2014; 69:706–714.

173.Louie T, Nord CE, Talbot GH, Wilcox M, Gerding DN, Buitrago M, et al. Multicenter, double-blind, randomized, phase 2 study evaluating the novel antibiotic cadazolid in patients with *Clostridium difficile* infection. *Antimicrob Agents Chemother* 2015; 59(10):6266-6273.

174.Alam MZ, Wu X, Mascio C. Mode of action and bactericidal properties of surotomycin against growing and nongrowing *Clostridium difficile*. *Antimicrob Agents Chemother* 2015; 59(9):5165-5170.

175.Citron DM, Tyrrell KL, Dale SE, Chesnel L, Goldstein EJ. Impact of surotomycin on the gut microbiota of healthy volunteers in a phase 1 clinical trial. *Antimicrob Agents Chemother* 2016; 60:2069–74.

176.Boix V, Fedorak RN, Mullane KM, Pesant Y, Stoutenburgh U, Jin M, et al. Primary outcomes from a phase 3, randomized, double-blind, active-controlled trial of surotomycin in subjects with *Clostridium difficile* infection. *Open Forum Infect Dis* 2017; 4(1):ofw275.

177.Weiss K. Toxin-binding treatment for *Clostridium difficile*: a review including reports of studies with tolevamer. *Int J Antimicrob Agents* 2009; 33:4–7.

178.Taylor NS, Bartlett JG. Binding of *Clostridium difficile* cytotoxin and vancomycin by anion-exchange resins. *J Infect Dis* 1980; 141:92–7.

179.Kunimoto D, Thomson AB. Recurrent *Clostridium difficile* associated colitis responding to cholestyramine. *Digestion* 1986; 33:225–8.

180.Pruksananonda P, Powell KR. Multiple relapses of *Clostridium difficile* associated diarrhea responding to an extended course of cholestyramine. *Pediatr Infect Dis J* 1989; 8:175–8.

181.Mogg GA, George RH, Youngs D. Randomized controlled trial of colestipol in antibiotic-associated colitis. *Br J Surg* 1982; 69:137–9.

182. Wall GC, Almoazen H, Maki ED. Lack of a physicochemical interaction between metronidazole and cholestyramine. *Int J Antimicrob Agents* 2007; 30:372–4.

183. Barker Jr RH, Dagher R, Davidson DM, Marquis JK. Review article: tolevamer, a novel toxin-binding polymer: overview of preclinical pharmacology and physicochemical properties. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24:1525–34.

184. 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.

185. World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. October 2011. [www.who.int/foodsafety/publications/fs\\_management/en/probiotics.pdf](http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/probiotics.pdf). Accessed February 15, 2014.

186. Musgrave CR, Bookstaver PB, Sutton SS, Miller AS. Use of alternative or adjuvant pharmacologic treatment strategies in the prevention and treatment of *Clostridium difficile* infection. *Int J Infect Dis* 2011; 15:e438-e448.

187. McFarland LV. Meta-analysis of probiotics for prevention of antibiotic associated diarrhea and treatment of *Clostridium difficile* disease. *Am J Gastroenterol* 2006; 101:812–22.

188. Libby DB, Bearman G. Bacteremia due to *Clostridium difficile*—review of the literature. *Int J Infect Dis* 2009; 13:e305–9.

189. Pillai A, Nelson RL. Probiotics for treatment of *Clostridium difficile*-associated colitis in adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2008; (1) CD004611.

190. Pothoulakis C. Review article: anti-inflammatory mechanisms of action of *Saccharomyces boulardii*. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 30:826–833.

191. Pothoulakis C, Kelly CP, Joshi MA, Gao N, O'Keane CJ, Castagliuolo I, Lamont JT. *Saccharomyces boulardii* inhibits *Clostridium difficile* toxin A binding and enterotoxicity in rat ileum. *Gastroenterology* 1993;104:1108–1115

192.Castagliuolo I, LaMont JT, Nikulasson ST, Pothoulakis C. *Saccharomyces boulardii* protease inhibits *Clostridium difficile* toxin A effects in the rat ileum. *Infect Immun* 1996; 64:5225–5232.

193.Surawicz CM, McFarland LV, Greenberg RN, Rubin M, Fekety R, Mulligan ME, et al. The search for a better treatment for recurrent *Clostridium difficile* disease: Use of high-dose vancomycin combined with *Saccharomyces boulardii*. *Clin Infect Dis* 2000;31:1012–7.

194.McFarland LV, Surawicz CM, Greenberg, Fekety R, Elmer GW, Moyer KA, et al. A randomized placebo-controlled trial of *Saccharomyces boulardii* in combination with standard antibiotics for *Clostridium difficile* disease. *JAMA* 1994; 271:1913–8.

195.McFarland LV. Meta-analysis of probiotics for the prevention of antibiotic associated diarrhea and the treatment of *Clostridium difficile* disease. *Am J Gastroenterol* 2006; 101:812.

196. *Saccharomyces boulardii*. MedlinePlus. Available at: <https://medlineplus.gov/druginfo/natural/332.html>

197.Bakken JS, Borody T, Brandt LJ, Brill JV, Demarco DC, Franzos MA, et Fecal Microbiota Transplantation Workgroup. Treating *Clostridium difficile* infection with fecal microbiota transplantation. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011; 9(12):1044-9.

198.Cammarota G, Ianiro G, Tilg H, Rajilić-Stojanović M, Kump P, Satokari R, et European FMT Working Group. European consensus conference on faecal microbiota transplantation in clinical practice. *Gut* 2017; 66(4):569-580.

199.Youngster I, Russell GH, Pindar C, Ziv-Baran T, Sauk J, Hohmann EL. Oral, capsulized, frozen fecal microbiota transplantation for relapsing *Clostridium difficile* infection. *JAMA* 2014; 5:1772–8.

200.Gough E, Shaikh H, Manges AR. Systematic review of intestinal microbiota transplantation (fecal bacteriotherapy) for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis* 2011; 53:994–1002.

201. Seal D, Borriello SP, Barclay F, Welch A, Piper M, Bonnycastle M. Treatment of relapsing *Clostridium difficile* diarrhoea by administration of a non-toxicogenic strain. *Eur J Clin Microbiol* 1987; 6:51–53.

202. Gerding DN, Meyer T, Lee C, Cohen SH, Murthy UK, Poirier A, et al. Administration of spores of nontoxicogenic *Clostridium difficile* strain M3 for prevention of recurrent *C. difficile* infection: a randomized clinical trial. *JAMA* 2015; 313: 1719–1727.

203. Wilson KH, Sheagren JN. Antagonism of toxigenic *Clostridium difficile* by nontoxicogenic *C. difficile*. *J Infect Dis* 1983; 147:733–736.

204. Salcedo J, Keates S, Pothoulakis C, Warny M, Castagliuolo I, LaMont JT, Kelly CP. Intravenous immunoglobulin therapy for severe *Clostridium difficile* colitis. *Gut* 1997; 41:366–70.

205. Leung, DY, Kelly, CP, Boguniewicz, Pothoulakis C, LaMont JT, Flores A. Treatment with intravenously administered gamma globulin of chronic relapsing colitis induced by *Clostridium difficile* toxin. *J Pediatr* 1991; 118: 633–637.

206. Wang W, Wang EQ, Balthasar JP. Monoclonal antibody pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Clin Pharmacol Ther* 2008; 84:548–558.

207. Wilcox MH, Gerding DN, Poxton IR, Kelly C, Nathan R, Birch T et al. Bezlotoxumab for prevention of recurrent *Clostridium difficile* infection. *N Engl J Med* 2017;376(4):305–317.

208. Mullard A. FDA approves antitoxin antibody. *Nature reviews Drug discovery* 2016; 15(12):811.

209. Ghose C, Kelly CP. The prospect for vaccines to prevent *Clostridium difficile* infection. *Infect Dis Clin North Am* 2015; 29:145–162.

210. Foglia G, Shah S, Luxemburger C, Pietrobon PJ. *Clostridium difficile*: development of a novel candidate vaccine. *Vaccine* 2012; 30:4307–4309.

211. Sougioultzis S, Kyne L, Drudy D, Keates S, Maroo S, Pothoulakis C, et al. *Clostridium difficile* toxoid vaccine in recurrent *C. difficile*-associated diarrhea. *Gastroenterology* 2005; 128:764–770.

212. Greenberg R. N, Marbury T. C, Foglia G, Warny M. Phase I dose finding studies of an adjuvanted *Clostridium difficile* toxoid vaccine. *Vaccine* 2012; 30:2245–2249.

213. Donald RG, Flint M, Kalyan N, Johnson E, Witko SE, Kotash C, et al. A novel approach to generate a recombinant toxoid vaccine against *Clostridium difficile*. *Microbiology* 2013;159(Pt 7):1254-66.

214. Tian JH, Fuhrmann SR, Kluepfel-Stahl S, Carman RJ, Ellingsworth L, Flyer DC. A novel fusion protein containing the receptor binding domains of *C. difficile* toxin A and toxin B elicits protective immunity against lethal toxin and spore challenge in preclinical efficacy models. *Vaccine* 2012; 30(28):4249-58.

215. Permpoonpattana P, Hong HA, Phetcharaburanin J, Huang JM, Cook J, Fairweather NF, Cutting SM. Immunization with Bacillus spores expressing toxin A peptide repeats protects against infection with *Clostridium difficile* strains producing toxins A and B. *Infect Immun* 2011; 79(6):2295-302.

216. Kokai-Kun JF, Roberts T, Coughlin O, Whalen H, Le CC, Gottlieb KT, et al. SYN-004 (Ribaxamase), an Oral  $\beta$ -Lactamase, Prevented *Clostridium Difficile* Infection and Protected Patients from Colonization by Antimicrobial Resistant Pathogens by Preserving Gut Microbiome Diversity in a Phase 2B Clinical Trial. *Gastroenterol* 2017; 152 (5) S1309.

217. Declaration of Helsinki Recommendation Guiding Physicians in Biomedical Research involving human subjects. *JAMA* 1997; 277: 925–926

218. Lucado, J, Gould C, Elixhauser A. *Clostridium difficile* infections (CDI) in hospital stays, 2009. Healthcare Cost and Utilization Project, Agency for Healthcare Research and Quality. Statistical brief #124. Available at: <http://www.hcup-us.ahrq.gov/reports/statbriefs/sb124.pdf>

219. Simor AE. Diagnosis, management, and prevention of *Clostridium difficile* infection in long-term care facilities: a review. *J Am Geriatr Soc* 2010; 58(8):1556–1564.

220.Chakra ACN, Pepin J, Sirard S, Valiquette L. Risk factors for recurrence, complications and mortality in *Clostridium difficile* infection: a systematic review. *PLoS One* 2014; 9(6):e98400.

221.Zheng B, Han S, Takahashi Y, Kelsoe G. Immunosenescence and germinal center reaction. *Immunol Rev* 1997; 160(1):63–77.

222.Naylor K, Li G, Vallejo AN, Lee WW, Koetz K, Bryl E, et al. The influence of age on T cell generation and TCR diversity. *J Immunol* 2005; 174(11):7446–7752.

223.Yoshikawa TT, Norman DC. Geriatric infectious diseases: current concepts on diagnosis and management. *J Am Geriatr Soc* 2017; 65(3):631–641.

224.Kyne L, Merry C, O’Connell B, Kelly A, Keane C, O’Neill D. Factors associated with prolonged symptoms and severe disease due to *Clostridium difficile*. *Age Ageing* 1999; 28(2):107–113.

225.Rao K, Micic D, Chenoweth E, Deng L, Galecki AT, Ring C, et al. Poor functional status as a risk factor for severe *Clostridium difficile* infection in hospitalized older adults. *J Am Geriatr Soc* 2013; 61(10):1738–1742.

226.Ticinesi A, Nouvenne A, Folesani G, Prati B, Morelli I, Guida L, et al. Multimorbidity in elderly hospitalised patients and risk of *Clostridium difficile* infection: a retrospective study with the Cumulative Illness Rating Scale (CIRS). *BMJ Open* 2015; 26:5(10):e009316.

227.Skoutelis A, Pefanis A, Tsiodras S, Sipsas NV, Lelekis M, Lazanas MC, et al. Point-prevalence survey of healthcare facility-onset healthcare-associated *Clostridium difficile* infection in Greek hospitals outside the intensive care unit: The C. DEFINE study. *PLoS ONE* 12(8):e0182799.

228.Moshkowitz M, Baruch EB, Kline Z, Moshe G, Shimoni Z, Konikoff F. Clinical manifestations and outcome of pseudomembranous colitis in an elderly population in Israel. *IMAJ* 2004; 6:201-204.

229.Kent KC, Rubin MS, Wroblewski L, Hanff PA, Silen W. The impact of *Clostridium difficile* on a surgical service: a prospective study of 374 patients. *Ann Surg February* 1998; 227(2):296–301.

230.Harbarth S, Samore MH, Carmeli Y. Antibiotic prophylaxis and the risk of *Clostridium difficile* associated diarrhoea. *J Hosp Infect* 2001; 48(2):93–7.

231.McCarter MD, Abularrage C, Velasco FT, Davis JM, Daly JM. Diarrhea and *Clostridium difficile* associated diarrhea on a surgical service. *Arch Surg* 1996; 131(12):1333–7.

232.Bulstrode NW, Bradbury AW, Barrett S, Stansby G, Mansfield AO, Nicolaides AN, Wolfe JH. *Clostridium difficile* colitis after aortic surgery. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1997; 14(3):217–20.

233.Southern WN, Rahmani R, Aroniadis O, Khorshidi I, Thanjan A, Ibrahim C, Brandt LJ. Postoperative *Clostridium difficile*-Associated Diarrhea. *Surgery* 2010; 148(1): 24–30.

234. Bender B, Laughon B, Gaydos C, Greenough WB 3rd, Gaydos C, Sears SD, et al. Is *Clostridium difficile* endemic in chronic care facilities? *Lancet* 1986; 328:11–13.

235.Simor AE, Yake SL, Tsimidis K. Infection Due to *Clostridium difficile* Among Elderly Residents of a Long-Term-Care Facility. *Clin Infect Dis* 1993; 17:672–678.

236.Arvand M, Moser V, Schwehn C, Bettge-Weller G, Hensgens MP, Kuijper EJ. High Prevalence of *Clostridium difficile* Colonization among Nursing Home Residents in Hesse, Germany. *PLoS ONE* 2012; 7:e30183.

237.Marciniak C, Chen D, Stein AC, Semik PE. Prevalence of *Clostridium difficile* Colonization at Admission to Rehabilitation. *Arch Phys Med Rehabil* 2006; 87:1086–1090.

238.Riggs MM, Sethi AK, Zabarsky TF, Eckstein EC, Jump RL, Donskey CJ. Asymptomatic Carriers Are a Potential Source for Transmission of Epidemic and Nonepidemic *Clostridium difficile* Strains among Long-Term Care Facility Residents. *Clin Infect Dis* 2007; 45:992–998.

239.Bartlett JG. Antibiotic-Associated Diarrhea. *N Engl J Med* 2002; 346:334–339.

240. Jones AL, Dwyer LL, Bercovitz AR, Strahan GW. The National Nursing Home Survey: 2004 overview. *Vital Health Stat* 2009; 13:1–155.

241. Kim JH, Toy D, Muder RR. *Clostridium difficile* Infection in a Long-Term Care Facility: Hospital-Associated Illness Compared with Long-Term Care-Associated Illness. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2011; 32:656–660.

242. Pawar D, Tsay R, Nelson DS, Elumalai MK, Lessa FC, Clifford McDonald L, Dumyati G. Burden of *Clostridium difficile* Infection in Long-Term Care Facilities in Monroe County, New York. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2012; 33:1107–1112.

243. Nicolle LE, Bentley DW, Garibaldi R, Neuhaus EG, Smith PW. Antimicrobial Use in Long-Term-Care Facilities. SHEA Long-Term-Care Committee. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2000; 21:537–545.

244. Peron EP, Hirsch AA, Jury LA, Jump RL, Donskey CJ. Another setting for stewardship: high rate of unnecessary antimicrobial use in a veterans affairs long-term care facility. *J Am Geriatr Soc* 2013; 61:289–290.

245. Rotjanapan P, Dosa D, Thomas KS. Potentially inappropriate treatment of urinary tract infections in two Rhode island nursing homes. *Arch Intern Med* 2011; 171:438–443.

246. Ricciardi R, Rothenberger DA, Madoff RD, Baxter NN. Increasing prevalence and severity of *Clostridium difficile* colitis in hospitalized patients in the United States. *Arch Surg* 2007; 142: 624-631

247. Bouza E, Muñoz P, Alonso R. Clinical manifestations, treatment and control of infections caused by *Clostridium difficile*. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11 Suppl 4: 57-64.

248. Rodríguez-Varón A, Muñoz OM, Pulido-Arenas J, Amado SB, Tobón-Trujillo M. Antibiotic-associated diarrhea: Clinical characteristics and the presence of *Clostridium difficile*. *Rev Gastroenterol Mex* 2017; 82(2):129-133.

249. Cleary RK. *Clostridium difficile*-associated diarrhea and colitis - Clinical manifestations, diagnosis, and treatment. *Dis Colon Rectum* 1998; 41: 1435-1449.



250.Kelly CP, Pothoulakis C, LaMont JT. *Clostridium difficile* colitis. *N Engl J Med* 1994; 330(4):257-62.

251.Marshak RH, Lester LJ. Megacolon a complication of ulcerative colitis. *Gastroenterology* 1950; 16: 768-772.

252.Berman L, Carling T, Fitzgerald TN, Bell RL, Duffy AJ, Longo WE, Roberts KE. Defining surgical therapy for pseudomembranous colitis with toxic megacolon. *J Clin Gastroenterol* 2008; 42:476-480.

253.Earhart MM. The identification and treatment of toxic megacolon secondary to pseudomembranous colitis. *Dimens Crit Care Nurs* 2008; 27: 249-254.

254.Salva S, Duran N, Rodriguez V, Nieto L, Serra J, Rello J; CRIPS Investigators. *Clostridium difficile* in the ICU: Study of the incidence, recurrence, clinical characteristics and complications in a University Hospital. *Med Intensiva* 2014; 38(3):140-145.

255.Grundfest-Broniatowski S, Quader M, Alexander F, Walsh RM, Lavery I, Milsom J. *Clostridium difficile* colitis in the critically ill. *Dis Colon Rectum* 1996; 39:619–23.

256.Bagby GC. Leukopenia and leukocytosis. In: Goldman L, Bennett JC, editors. *Cecil's textbook of medicine*. 21st ed. Philadelphia: W.B Saunders Co 2000; pp. 919–33.

257.Lihua Z, Danfeng D, Cen J. Clinical characterization and risk factors of *Clostridium difficile* infection in elderly patients in a Chinese hospital. *J Infect Dev Ctries* 2015; 9(4):381-387.

258.Farrell JJ. Overview and diagnosis of malabsorption syndrome. *Semin Gastrointest Dis* 2002;13(4):182-90.

259.Rossi E. Heparin - the Iron Regulatory Hormone. *Clin Biochem Rev* 2005; 26(3): 47–49.

260.Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, Vaughn MB, Donovan A, Ward DM, et al. Heparin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science* 2004;306:2090–3.

261.Black JA. Diarrhoea, vitamin K, and warfarin. *Lancet* 1994; 344(8933):1373.

262. Rupnik M, Tambic Andrasevic A, Trajkovska Dokic E, Matas I, Jovanovic M, Pasic S et al. Distribution of *Clostridium difficile* PCR ribotypes and high proportion of 027 and 176 in some hospitals in four South Eastern European countries. *Anaerobe* 2016; 42:142-144.

263. Aschbacher R, Indra A, Wiedermann CJ, March A, Giacon B, Mian P, et al. Predominance of *Clostridium difficile* 027 during a five-year period in Bolzano, Northern Italy. *Infez Med* 2017; 25(1):13-20.

264. Pituch H, Obuch-Woszczatyński P, Lachowicz D, et Polish *Clostridium difficile* Study Group. Hospital-based *Clostridium difficile* infection surveillance reveals high proportions of PCR ribotypes 027 and 176 in different areas of Poland, 2011 to 2013. *Euro Surveill* 2015;20(38). doi: 10.2807/1560-7917.ES.2015.20.38.30025.

265. Krutova M, Matejkova J, Kuijper EJ, Drevinek P, Nyc O; Czech *Clostridium difficile* study group. *Clostridium difficile* PCR ribotypes 001 and 176 - the common denominator of *C. difficile* infection epidemiology in the Czech Republic, 2014. *Euro Surveill* 2016; 21(29). doi: 10.2807/1560-7917.ES.2016.21.29.30296.

266. Arvand M, Vollandt D, Bettge-Weller G, Harmanus C, Kuijper EJ; *Clostridium difficile* study group Hesse. Increased incidence of *Clostridium difficile* PCR ribotype 027 in Hesse, Germany, 2011 to 2013. *Euro Surveill* 2014;19(10). pii: 20732.

267. Barmparas G, Fierro N, Lamb AW, Lee D, Nguyen B, Tran DH, et al. *Clostridium difficile* increases the risk for venous thromboembolism. *Am J Surg* 2014; 208(5):703-9.

268. Zar FA, Bakkanagari SR, Moorthi KMLST, Davis MB. A comparison of vancomycin and metronidazole for the treatment of *Clostridium difficile*-associated diarrhoea, stratified by disease severity. *Clin Infect Dis* 2007; 45:302-307.

269. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) DIFICLIR (fidaxomicin) Assessment report, European Medicines Agency, 22 September 2011. Available at: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/EPAR\\_-\\_Public\\_assessment\\_report/human/002087/WC500119707.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Public_assessment_report/human/002087/WC500119707.pdf). Accessed 31 January 2014

270. Davido B, Leplay C, Bouchand F, Dinh A, Villart M, Le Quintrec JL, et al. Oral Teicoplanin as an Alternative First-Line Regimen in *Clostridium difficile* Infection in Elderly Patients: A Case Series. *Clin Drug Investig* 2017; 37(7):699-703.

271. Malamood M, Nellis E, Ehrlich AC, FriedenberG FK. Vancomycin Enemas as Adjunctive Therapy for *Clostridium difficile* Infection. *J Clin Med Res* 2015; 7(6):422-7.

272. Penziner S, Dubrovskaya Y, Press R, Safdar A. Fidaxomicin therapy in critically ill patients with *Clostridium difficile* infection. *Antimicrob Agents Chemother* 2015; 59(3):1776-81.

273. Cornely OA, Miller MA, Louie TJ, Crook DW, Gorbach SL. Treatment of first recurrence of *Clostridium difficile* infection: fidaxomicin versus vancomycin. *Clin Infect Dis* 2012; (55 Suppl 2):S154-61.

274. Mullane KM, Miller MA, Weiss K, Lentnek A, Golan Y, Sears PS, et al. Efficacy of fidaxomicin versus vancomycin as therapy for *Clostridium difficile* infection in individuals taking concomitant antibiotics for other concurrent infections. *Clin Infect Dis* 2011; 53:440-447.

275. Pham VP, Luce AM, Ruppelt SC, Wei W, Aitken SL, Musick WL et al. Age-stratified treatment response rates in hospitalized patients with *Clostridium difficile* infection treated with metronidazole. *Antimicrob Agents Chemother* 2015; 59(10):6113-6.

276. Pepin J, Alary ME, Valiquette L, Raiche E, Ruel J, Fulop K, et al. Increasing risk of relapse after treatment of *Clostridium difficile* colitis in Quebec, Canada. *Clin Infect Dis* 2005; 40:1591–1597.

277. Musher DM, Aslam S, Logan N, Nallacheru S, Bhaila I, Borchert F, Hamill RJ. Relatively poor outcome after treatment of *Clostridium difficile* colitis with metronidazole. *Clin Infect Dis* 2005; 40: 1586-1590.

278. Peláez T, Alcalá L, Alonso R, Rodríguez-Créixems M, García-Lechuz JM, Bouza E. Reassessment of *Clostridium difficile* susceptibility to metronidazole and vancomycin. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 1647-1650.

279. Baines SD, O'Connor R, Freeman J, Fawley WN, Harmanus C, Mastrantonio P, et al. Emergence of reduced susceptibility to metronidazole in *Clostridium difficile*. *J Antimicrob Chemother* 2008; 62:1046-1052.

280. Wong SS, Woo PC, Luk WK, Yuen KY. Susceptibility testing of *Clostridium difficile* against metronidazole and vancomycin by disc diffusion and Etest. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999; 34:1-6.

281. Barbut F, Decre D, Burghoffer B, Lesage D, Delisle F, Lalande V, et al. Antimicrobial susceptibilities and serogroups of clinical strains of *Clostridium difficile* isolated in France in 1991 and 1997. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43:2607-2611.

282. Freeman J, Vernon J, Morris K, Nicholson S, Todhunter S, Longshaw C, Wilcox MH; Pan-European Longitudinal Surveillance of Antibiotic Resistance among Prevalent *Clostridium difficile* Ribotypes' Study Group. Pan-European longitudinal surveillance of antibiotic resistance among prevalent *Clostridium difficile* ribotypes. *Clin Microbiol Infect* 2015; 21: 248.e9–248.e16

283. Morrison RH, Hall NS, Said M, Rice T, Groff H, Brodine SK, et al. Risk factors associated with complications and mortality in patients with *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis* 2011; 53(12):1173-8.

284. Wilson V, Cheek L, Satta G, Walker-Bone K, Cubbon M, Citron D, et al. Predictors of death after *Clostridium difficile* infection: a report on 128 strain-typed cases from a teaching hospital in the United Kingdom. *Clin Infect Dis* 2010; 50(12):e77-81.

285. Seder CW, Villalba MR Jr, Robbins J, Ivascu FA, Carpenter CF, Dietrich M, Villalba MR Sr. Early colectomy may be associated with improved survival in fulminant *Clostridium difficile* colitis: an 8-year experience. *Am J Surg* 2009; 197(3):302-7.

286. Perera AD, Akbari RP, Cowher MS, Read TE, McCormick JT, Medich DS, et al. Colectomy for fulminant *Clostridium difficile* colitis: predictors of mortality. *Am Surg* 2010; 76(4):418-21.

287. Bishara J, Peled N, Pitlik S, Samra Z. Mortality of patients with antibiotic-associated diarrhoea: the impact of *Clostridium difficile*. *J Hosp Infect* 2008; 68(4):308-14.

288.Pant C, Deshpande A, Anderson MP, Sferra TJ. *Clostridium difficile* infection is associated with poor outcomes in end-stage renal disease. *J Investig Med* 2012; 60(2):529-32.

289.Jansen A, Kleinkauf N, Weiss B, Zaiss NH, Witte W, Bornhofen B, et al. Emergence of *Clostridium difficile* ribotype 027 in Germany: epidemiological and clinical characteristics. *Z Gastroenterol* 2010; 48(9):1120-5.

290.Patel I, Wungjiranirun M, Theethira T, Villafuerte-Galvez J, Castillo N, Akbari M, et al. Lack of adherence to SHEA-IDSa treatment guidelines for *Clostridium difficile* infection is associated with increased mortality. *J Antimicrob Chemother* 2017; 72:574-581.

291.Marra AR, Edmond MB, Wenzel RP, Bearman GM. Hospital-acquired *Clostridium difficile*-associated disease in the intensive care unit setting: epidemiology, clinical course and outcome. *BMC Infect Dis* 2007; 21; 7:42.

292.Kenneally C, Rosini JM, Skrupky LP, Doherty JA, Hollands JM, Martinez E, et al. Analysis of 30-day mortality for *Clostridium difficile*-associated disease in the ICU setting. *Chest* 2007; 132(2):418-24.

293.Lamontagne F, Labbé AC, Haeck O, Lesur O, Lalancette M, Patino C, et al. Impact of emergency colectomy on survival of patients with fulminant *Clostridium difficile* colitis during an epidemic caused by a hypervirulent strain. *Ann Surg* 2007; 245(2):267-72.

294.Labbe AC, Poirier L, MacCannell D, Louie T, Savoie M, Béliveau C, et al. *Clostridium difficile* infections in a Canadian tertiary care hospital before and during a regional epidemic associated with the BI/NAP1/027 strain. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52(9):3180–3187.

295.Stewart DB, Hollenbeak CS. *Clostridium difficile* colitis: factors associated with outcome and assessment of mortality at a national level. *J Gastrointest Surg* 2011;15: 1548–55.

296.Warny M, Vaerman JP, Avesani V, Delmee M. Human antibody response to *Clostridium difficile* toxin A in relation to clinical course of infection. *Infect Immun* 1994; 62:384-389.

297. Kyne L, Warny M, Qamar A, Kelly GP. Association between antibody response to toxin A and protection against recurrent *Clostridium difficile* diarrhoea. *Lancet* 2001; 357:189-193.

298. Garey KW, Jiang ZD, Ghantaji S, Tam VH, Arora V, Dupont HL. A common polymorphism in the interleukin-8 gene promoter is associated with an increased risk for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis* 2010; 51:1406-1410.

299. Wilcox MH, Cunniffe JG, Trundle C, Redpath C. Financial burden of hospital-acquired *Clostridium difficile* infection. *J Hosp Infect* 1996; 34:23-30.

300. Taori SK, Wroe A, Poxton IR. *Clostridium difficile* infections in South East Scotland: mortality and recurrence in a region without PCR ribotype 027. *J Med Microbiol* 2013; 62:1468-1477.

301. Kelly CP. Can we identify patients at high risk of recurrent *Clostridium difficile* infection? *Clin Microbiol Infec* 2012; 18(Suppl 6):21–27.

302. Johnson S, Adelman A, Clabots CR, et al. Recurrence of *Clostridium difficile* diarrhoea not caused by the original infecting organism. *J Infect Dis* 1989; 159:340-343.

303. Jasiak NM, Alaniz C, Rao K, Veltman K, Nagel JL. Recurrent *Clostridium difficile* infection in intensive care unit patients. *Am J Infect Control* 2016; 44(1):36-40.

304. Di Bella S, Paglia MG, Johnson E, Petrosillo N. *Clostridium difficile* 027 infection in Central Italy. *BMC Infect Dis* 2012; 12:370.

305. Lee C, Louie TJ, Weiss K, Valiquette L, Gerson M, Arnott W, Gorbach SL. Fidaxomicin versus Vancomycin in the Treatment of *Clostridium difficile* Infection: Canadian Outcomes. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 2016; 118:725-732.

306. Scappaticci GB, Perissinotti AJ, Nagel JL, Bixby DL, Marini BL. Risk factors and impact of *Clostridium difficile* recurrence on haematology patients. *J Antimicrob Chemother* 2017; 72(5):1488-1495.

307. McFarland LV, Surawicz CM, Rubin M, Fekety R, Elmer GW, Greenberg RN. Recurrent *Clostridium difficile* disease: epidemiology and clinical characteristics. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999; 20:43-50.

308. Garey KW, Sethi S, Yadav Y, DuPont HL. Meta-analysis to assess risk factors for recurrent *Clostridium difficile* infection. *J Hosp Infect* 2008; 70:298-304.

309. Marsh JW, Arora R, Schlackman JL, Shutt KA, Curry SR, Harrison LH. Association of relaps of *Clostridium difficile* disease with BI/NAP1/027. *J Clin Microbiol* 2012; 50:4078-4082.

310. Nesnas J, Planche T, Whytney L. Fidaxomicin diminishes *Clostridium difficile* recurrence rates at a large teaching hospital. Poster presented at the Annual Conference of the Federation of Infectious Societies, 11-13 November 2013; Birmingham, UK. Poster 012.

311. Massie N, Shippee B, Eiland EH. Retrospective, observational analysis of fidaxomicin use and outcomes in the treatment of *Clostridium difficile* infections. Abstract presented at the Summer Meeting of the American Society of HealthSystem Pharmacists, 27-29 June 2013; Sandestin, FL, USA.

312. Petrella LA, Sambol SP, Cheknis A, Nagaro K, Kean Y, Sears PS, et al. Decreased cure and increased recurrence rates for *Clostridium difficile* infection caused by the epidemic *C. difficile* BI strain. *Clin Infect Dis* 2012; 55:351-357.

313. Leung DY, Kelly CP, Boguniewicz M, Pothoulakis C, LaMont JT, Flores A. Treatment with intravenously administered gammaglobulin of chronic relapsing colitis induced by *Clostridium difficile* toxin. *J Pediatr* 1991; 118:633-7.

314. Abougergi MS, Broor A, Cui W, Jaar BG. Intravenous immunoglobulin for the treatment of severe *Clostridium difficile* colitis: an observational study and review of the literature. *J Hosp Med* 2010; 5(1):E1-9.

315. Beales IL. Intravenous immunoglobulin for recurrent *Clostridium difficile* diarrhea. *Gut* 2002; 51:456.

316.Hassett J, Meyers S, McFarland L, Mulligan ME. Recurrent *Clostridium difficile* infection in a patient with selective IgG1 deficiency treated with intravenous immune globulin and *Saccharomyces boulardii*. *Clin Infect Dis* 1995; 20(Suppl 2): S266—8.

317.Hassoun A, Ibrahim F. Use of intravenous immunoglobulin for the treatment of severe *Clostridium difficile* colitis. *Am J Geriatr Pharmacother* 2007; 5:48—51.

318.Shahani L, Koirala J. Use of intravenous immunoglobulin in severe *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Hosp Pract* (1995) 2015; 43(3):154-7.

319.Gianotti RJ, Moss AC. The use and efficacy of fecal microbiota transplantation for refractory *Clostridium difficile* in patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2016; 22(11):2704-2710.

320.Kleger A, Schnell J, Essig A, Wagner M, Bommer M, Seufferlein T, Härter G. Case report: Fecal transplant in refractory *Clostridium difficile* colitis. *Dtsch Arztebl Int* 2013; 110(7):108–15.

321.Gweon TG, Lee KJ, Kang DH, Park SS, Kim KH, Seong HJ et al. A case of toxic megacolon caused by *Clostridium difficile* infection and treated with fecal microbiota transplantation. *Gut Liver* 2015; 9(2):247-50.

322.Konturek PC, Haziri D, Helfritsch H, Hess T, Harsch IA. Successful therapy of severe pseudomembranous *Clostridium difficile* colitis using a combination of fecal microbiota therapy and fidaxomicin. *Med Princ Pract* 2017; 26(2):182-184.

323.Kim PK, Huh HC, Cohen HW, Feinberg EJ, Ahmad S, Coyle C, et al. Intracolonic vancomycin for severe *Clostridium difficile* colitis. *Surg Infect (Larchmt)* 2013; 14: 532-539.



## ***LISTA SKRAĆENICA***

CCNA - Cell Cytotoxicity Neutralisation Assay

CDI - *Clostridium difficile* infekcija

CI – confidence interval

CRP – C-reaktivni protein

CT- kompjuterizovana tomografija

EIA – Enzyme Immuno Assay

EMA – European Medical Agency

ESCMID – European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases

FDA- Food and Drug Agency

GDH – glutamat dehidrogenaza

GIT - gastrointestinalni trakt

G-CSF – Granulocyte Colony Stimulating factor

HIV – human immunodeficiency virus

IDSA – Infectious Disease Society of America

i.v. – intravenski

IVIG – intravenski imunoglobulini

MIC – Minimal Inhibitory Concentration

NAAT – Nucleic Acid Amplification Test

OR – odds ratio

PCR – Polymerase chain reaction

SAD - Sjedinjene Američke Države

SHEA - Society of Hospital Epidemiologists of America

SD - standardna devijacija

## BIOGRAFIJA

Dr Nataša Nikolić (devojačko prezime- Popović) rođena je 25.3.1984. godine u Beogradu gde je završila osnovnu školu i XII beogradsku gimnaziju sa odličnim uspehom.

Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu upisala je 2002. godine, a diplomirala je u januaru 2009. godine sa prosečnom ocenom 10,00.

Poslediplomske specijalističke akademske studije (studije drugog stepena) upisala je 2009. godine iz oblasti Neurologija na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu, a završila u decembru 2011. godine odbranom završnog akademskog specijalističkog rada pod nazivom „Infekcija kao komplikacija ishemijskog moždanog udara“ pod mentorstvom prof dr Dejana Jovanović.

Doktorske akademske studije iz naučne oblasti Medicinska farmakologija upisala je školske 2011/2012. godine na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu.

Specijalističke studije iz oblasti Infektologije na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu upisala je 2012. godine, a završila 2017. godine sa ocenom odličan.

Od decembra 2009. u radnom je odnosu u Klinici za infektivne i tropske bolesti Kliničkog centra Srbije, a u martu 2018. godine izabrana je u zvanje Kliničkog asistenta za užu naučnu oblast INFEKTIVNE BOLESTI na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu.

Autor je više radova publikovanih u domaćim i međunarodnim časopisima.

Prilog 1.

## Izjava o autorstvu

Potpisani-a Popović Nataša

broj upisa MF 08/11

### Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

**„Ispitivanje efikasnosti peroralno primenjenog teikoplanina u farmakoterapiji teških, komplikovanih i refraktarnih oblika *Clostridium difficile* infekcije“**

---

---

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

**Potpis doktoranda**

U Beogradu, 3.5.2018.

Popović Nataša

Prilog 2.

## Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora \_\_\_\_\_ **Nataša Popović** \_\_\_\_\_

Broj upisa \_\_\_\_\_ MF 08/11 \_\_\_\_\_

Studijski program \_\_\_\_\_ Medicinska farmakologija \_\_\_\_\_

Naslov rada \_\_\_\_\_ **“Ispitivanje efikasnosti peroralno primenjenog teikoplanina u farmakoterapiji teških, komplikovanih i refraktarnih oblika *Clostridium difficile* infekcije“** \_\_\_\_\_

Mentor Prof. dr Miloš Korać \_\_\_\_\_

Komentor Prof. dr Zorica Nešić

Potpisani **Nataša Popović** \_\_\_\_\_

izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

**Potpis doktoranda**

U Beogradu, \_\_\_\_\_ 3.5.2018. \_\_\_\_\_

*Nataša Popović*

Prilog 3.

## Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

**“Ispitivanje efikasnosti peroralno primenjenog teikoplanina u farmakoterapiji teških, komplikovanih i refraktarnih oblika *Clostridium difficile* infekcije“**

---

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo

2. Autorstvo - nekomercijalno

**3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade**

4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima

5. Autorstvo – bez prerade

6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poledini lista).

**Potpis doktoranda**

U Beogradu, \_\_\_\_\_ 3.5.2018. \_\_\_\_\_

Novobit Hajdara

1. **Autorstvo** - Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.
2. **Autorstvo – nekomercijalno**. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
3. **Autorstvo - nekomercijalno – bez prerade**. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.
4. **Autorstvo - nekomercijalno – deliti pod istim uslovima**. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.
5. **Autorstvo – bez prerade**. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
6. **Autorstvo - deliti pod istim uslovima**. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.