

**Univerzita Karlova**

**3. lékařská fakulta**

Dizertační práce

Praha, 2023

**MUDr. Sylvia Polívková**

# Univerzita Karlova

## 3. lékařská fakulta

Doktorský studijní program: Preventivní medicína



**MUDr. Sylvia Polívková**

**Prevence a terapie rekurentního průběhu klostridiové kolitidy**  
**Prevention and therapy of recurrent *Clostridioides difficile* infection**

Dizertační práce

Školitel: Prof. MUDr. Jiří Beneš, CSc.

Praha 2023

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval/a samostatně a že jsem řádně uvedl/a a citoval/a všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 11.12.2023

Sylvia Polívková

**Identifikační záznam:**

POLÍVKOVÁ, Sylvia. Prevence a terapie rekurentního průběhu klostridiové kolitidy. *[Prevention and therapy of recurrent Clostridioides difficile infection]*. Praha, 2023. 76 stran, Dizertační práce. Univerzita Karlova, 3. lékařská fakulta, Klinika infekčních nemocí 3. LF UK a FNB. Školitel: Prof. MUDr. Jiří Beneš, CSc.

**Klíčová slova:** *Clostridioides difficile, rekurentní, rizikové faktory, prevence, fidaxomicin, vankomycin, metronidazol*

**Keywords:** *Clostridioides difficile, Recurrence, Risk factors, Prevention, Fidaxomicin, Vancomycin, Metronidazole*

**Poděkování:**

Primárně bych chtěla poděkovat prof. MUDr. Jiřímu Benešovi, CSc., mému školiteli za cenné odborné rady a vedení v průběhu doktorského studia.

Velké poděkování patří Mgr. Marcele Krůtové, Ph.D. za neutuchající pomoc a podporu při zpracovávání laboratorních dat a přípravě publikačních výstupů.

Na závěr láskyplné poděkování patří mému manželovi za všestrannou pomoc a motivační podporu v závěrečném procesu přípravy a zpracování této práce a mým dětem za jejich trpělivost.

## Obsah

1. Úvod	8
2. Infekce vyvolané <i>Clostridioides difficile</i>	9
2.1. Epidemiologie a charakteristika bakterie	9
2.2. Patogeneze	11
2.3. Rizikové faktory	12
2.4. Klinický obraz	13
2.5. Diagnostika	15
2.6. Léčba	18
2.6.1. Antibiotické přístupy k léčbě	18
2.6.2. Neantibiotické přístupy k léčbě	21
2.6.3. Význam probiotik v prevenci CDI	22
2.7. Prevence šíření <i>C.difficile</i>	22
3. Cíle práce	23
4. Použité metody	23
5. Přehled výsledků	26
5.1. Vyhodnocení první fáze studie	26
5.1.1. Laboratorní diagnostika CDI	26
5.1.2. Molekulární charakterizace izolátů <i>C. difficile</i>	27
5.1.3. Analýza klinických dat	29
5.2. Vyhodnocení účinnosti antibiotických režimů	32
5.2.1. Charakteristika souboru pacientů	32
5.2.2. Zhodnocení léčebných výsledků v celém souboru pacientů	32
5.2.3. Zhodnocení léčebných výsledků u pacientů s iniciální CDI	34

5.2.4. Zhodnocení léčebných výsledků u pacientů s první recidivou CDI	35
5.2.5. Zhodnocení léčebných výsledků u pacientů s opakovanou recidivou CDI	36
5.2.6. Zhodnocení léčebných výsledků u pacientů s nezávažným průběhem CDI	37
5.2.7. Zhodnocení léčebných výsledků u pacientů s těžkým průběhem CDI	38
6. Diskuze	39
7. Závěr	44
8. Souhrn/Summary	46
9. Seznam zkratk	48
10. Literatura	50

# 1. Úvod

Infekce vyvolané *Clostridioides difficile* (CDI), původně *Clostridium difficile*, jsou akutní infekce zažívacího traktu, které se klinicky projevují především jako průjemová onemocnění, mohou však probíhat i ve formě život ohrožujících kolitid se systémovými projevy. Vznikají především v souvislosti s léčbou širokospektrými antibiotiky a pobytem osob ve zdravotnických zařízeních a z tohoto důvodu představují nejčastější příčinu nozokomiálních infekcí zažívacího traktu. Ve zdravotnických zařízeních významně zvyšují tlak na lůžkovou kapacitu jako důsledek prodloužených či opakovaných hospitalizací se současnou nutností zavádění bariérové izolace u infikovaných pacientů. Incidence onemocnění v posledních dvou dekádách narůstá, přibývají závažné průběhy a stoupá mortalita v souvislosti s CDI, a to především v kohortě pacientů starších 65 let, opakovaně nebo dlouhodobě hospitalizovaných, s přidruženou polymorbiditou a/nebo poruchou imunity. Tím podstatně stoupají finanční náklady spojené s jejich léčbou.

Hlavní příčinou vzniku onemocnění je sekundární střevní dysmikrobie vyvolaná terapeutickým či profylaktickým podáním antibiotik. Infekce může vzniknout i jako komplikace jiných léčebných zásahů, které vedou k poruše střevní mikroflóry, například onkologická léčba, užívání léků ovlivňujících žaludeční aciditu, operační výkony na zažívacím traktu a jiné. Dalším faktorem podmiňujícím rozvoj infekce je kolonizace střeva *C. difficile*, buď primární, nebo sekundární. Dlouhodobé přetrvávání dysmikrobie je rizikovým faktorem pro rekurenci onemocnění. Rekurentní formy CDI postihují přibližně 20-30 % infikovaných pacientů, část z nich prodělá mnohočetné rekurence (reccurent



CDI, rCDI). Závažný průběh onemocnění (severe CDI, sCDI) se může u pacienta rozvinout nezávisle na pořadí probíhající ataky, zpravidla vyžaduje léčbu v intenzivní péči, či chirurgickou intervenci. Rekurentní i závažné průběhy CDI zhoršují prognózu pacientů.

Z výše popsaných důvodů je v posledních letech vynakládáno poměrně velké výzkumné úsilí zaměřené na problematiku terapie a prevence jak sCDI, tak rCDI. Byly vyvinuty účinnější léčebné a preventivní postupy, jako jsou nová antibiotika (fidaxomicin, tigecyklin), postupy obnovující střevní mikrobiom (fekální bakterioterapie) nebo imunoterapie (monoklonální protilátky – bezlotoxumab), s cílem zlepšit účinnost kauzální léčby onemocnění a zamezit rekurencím. Výše popsané postupy jsou do běžné klinické praxe zaváděny pozvolna pro jejich finanční nákladnost či omezenou dostupnost. Zařazení nových léčiv a léčebných postupů v mezinárodních i národních doporučeních pro terapii CDI není jednotné a mění se v čase. Byly identifikovány a popsány klinické faktory asociované se zvýšeným rizikem rozvoje těžké nebo rekurentní formy CDI s cílem usnadnit optimalizaci terapeutických postupů.

Předkládaná dizertační práce má za cíl analýzu demografických, epidemiologických a klinických specifíků ve vybrané populaci pacientů s prokázanou CDI a analýzu jejich vlivu na průběh onemocnění. Zabývá se dále hodnocením účinnosti jednotlivých antibiotických léčebných postupů u pacientů s CDI ve vztahu k závažnosti průběhu onemocnění a rekurencím.

## 2. Infekce vyvolané *Clostridioides difficile*

### 2.1. Epidemiologie

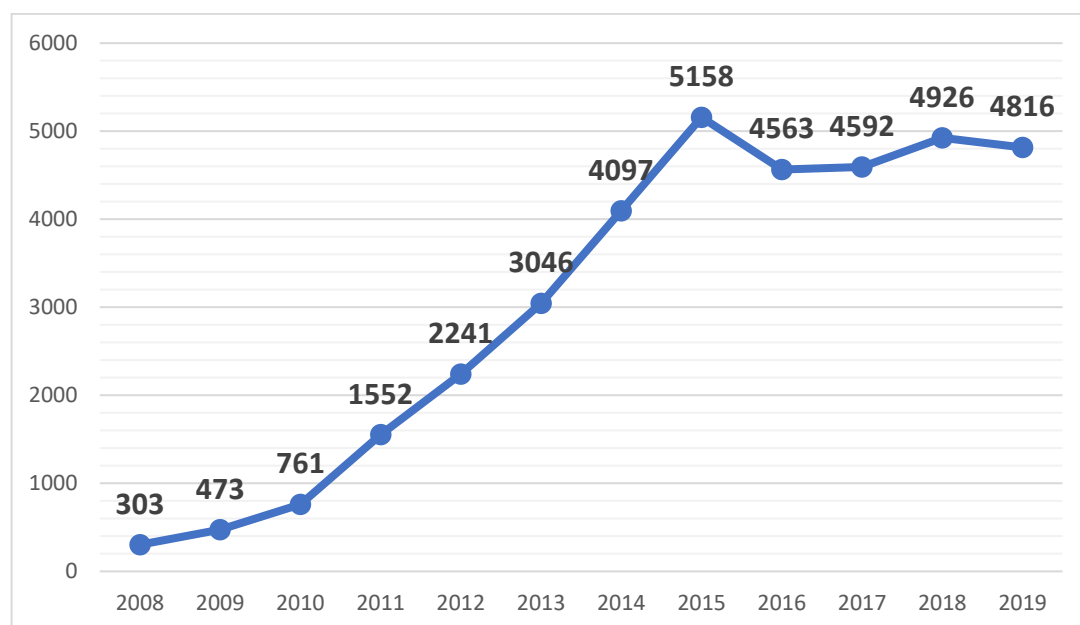
Bakterie *C. difficile* byla popsána v roce 1935 jako součást střevní flory novorozenců a pro její obtížnou kultivaci pojmenována *Bacillus difficilis* [1]. Éra zájmu o infekce vyvolané *C. difficile* započala koncem 70. let minulého století, kdy byla prokázána přímá souvislost mezi přítomností bakterie ve střevě a vznikem postantibiotického průjmu a pseudomembranózní kolitidy. U bakterie byla prokázána produkce cytopatického toxinu jako hlavní příčiny pablánového zánětu střeva po podání antibiotik [2].

V posledních dvou dekadách došlo ke skokovému nárůstu incidence onemocnění, vzestupu počtu závažných forem CDI a s tím související mortality postižených pacientů, především ve vyspělých státech severní Ameriky a Evropy [3]. Popsaná změna epidemiologické situace byla vysvětlena šířením tzv. hypervirulentních kmenů *C. difficile* (např. ribotyp 027, 078), charakterizovaných akumulací rezistence k antibiotikům, hyperprodukcí toxinů vyvolávajících zánět střevní sliznice a zvýšenou schopností sporulace, což umožňuje úspěšné šíření v nemocničním prostředí [4]. Dále byla potvrzena souvislost mezi věkem pacienta a závažností průběhu CDI v případě infekce způsobenou hypervirulentním kmenem [5]. U pacientů ve věku 60-90 let infikovaných těmito kmeny je přibližně dvakrát vyšší pravděpodobnost úmrtí nebo závažného průběhu souvisejícího s CDI ve srovnání s pacienty s infekcí jinými kmeny. U pacientů ve věku > 90 let se vyskytuje vysoká míra závažné CDI bez ohledu na typ vyvolávajícího kmene.

Incidence CDI v České republice s mírným opožděním kopírovala vývoj v Evropě, což dokumentuje stoupající trend v hlášení případů CDI do národního

systému evidence infekčních nemocí EPIDAT, spravovaného v SZÚ (graf č.1). Nárůst byl ovlivněn jednak narůstajícím výskytem onemocnění, ale i zlepšenou diagnostikou. Od roku 2015 došlo ke stabilizaci hlášených počtů klostridiových infekcí a poslední čtyři roky je evidováno necelých 5 000 případů ročně [6]. Diverzita ribotypů vyskytujících se v ČR je pestrá, ale dominantní postavení mají dva ribotypy (RT): RT176 (027-like) a RT001. Ty tvoří téměř polovinu všech identifikovaných ribotypů, což svědčí o epidemickém šíření v některých zdravotnických zařízeních [7, 8]. RT001 je asociovaný s těžším průběhem onemocnění a rezistencí k moxifloxacinu, což poukazuje na nutnost omezení používání fluorochinolonů v českých nemocnicích [9].

**Graf č.1.** Hlášené případy CDI v ČR v letech 2008-2019. Zdroj EPIDAT SZÚ



*C. difficile* (CD) je kultivačně náročná, grampozitivní, anaerobní, sporulující bakterie, vyskytující se ubikvitárně, jak v prostředí, tak v zažívacím traktu zvířat a člověka [10]. V nepříznivých podmínkách tvoří spory, které jsou značně odolné vůči fyzikálním i chemickým vlivům okolního prostředí a v této metabolicky klidové formě může dlouhodobě přežívat v prostředí po řadu měsíců i let. Přítomnost spor byla prokázána například i v potravinách (maso, zelenina) [11]. Míra kolonizace populace závisí na věku a prostředí, ve kterém se osoby vyskytují. Vysoká míra asymptomatické kolonizace je v novorozeneckém a kojeneckém věku (až 37 %), následně klesá a ve věku 2-3 let dosahuje běžné populační kolonizace, přibližně 1-5 % [12]. Významné riziko pro kolonizaci osob představuje i prostředí. Jsou to především zdravotnická zařízení, například nemocniční oddělení akutní péče, která jsou spojena s rizikem kolonizace u 20-30 % pacientů nebo zařízení dlouhodobé péče, jejichž klienti mohou být kolonizováni až v 70 %. V nemocničním prostředí je nejvýznamnější přenos mezi pacienty způsoben kontaminovanými rukama zdravotnického personálu [10, 13]. Přestože CDI patří k nejčastějším nozokomiálním infekcím, v posledních letech je poukazováno i na jejich vzrůstající výskyt v komunitě [14]. Komunitní CDI mohou tvořit až 40 % všech klostridiových infekcí, postihují mladší, většinou zdravé osoby, častěji vznikají bez souvislosti s podáním antibiotik a mívají mírnější průběh [13, 14, 15].

## **2.2. Patogeneze**

Pro vznik a rozvoj klostridiové kolitidy jsou zásadní dvě podmínky: 1. přítomnost toxigenního kmene *C. difficile* ve střevě pacienta a 2. narušení fyziologické střevní mikroflóry. K přenosu *C. difficile* dochází fekálně-orální cestou, zpravidla

prostřednictvím spor. Zdrojem infekce je pacient s akutním onemocněním, který vylučuje značné množství spor, kontaminujících okolní předměty i prostředí. V nemocničním prostředí pak snadno nastává přenos ze znečištěných povrchů kontaminovanými rukama zdravotnického personálu [16]. Ty jsou nejčastějším vektorem infekčního agens. Zdrojem komunitních infekcí mohou být hospodářská a domácí zvířata, případně kontaminovaná potrava [17]. Po požití spor pacientem dochází ve střevě k jejich germinaci na vegetativní bakteriální buňky, především za přítomnosti primárních žlučových kyselin. Metabolismus žlučových kyselin má zásadní význam pro aktivitu *C. difficile* ve střevě, jak bylo prokázáno v experimentu, kdy sekundární žlučové kyseliny, vznikající za přítomnosti bakterií střevní mikroflóry v tlustém střevě, inhibovaly růst *C. difficile* a tím zabránily jeho pomnožení. Stabilní a druhově vyvážená fyziologická mikroflóra střeva zajišťuje kolonizační rezistenci chránící střevní sliznici před uchycením a pomnožením patogenních bakterií, dále vytváří kompetici o nutrienty, obsazuje ekologické niky, produkuje antibakteriálně působící látky a komunikuje a kooperuje s imunitním systémem hostitele. Proto dysmikrobie, vzniklá po podání antibiotik, především širokospektrých, zásadně naruší stabilitu střevního ekosystému a tím umožní pomnožení klostridií a jejich patogenní působení [18]. Toxigenní kmeny *C. difficile* produkují toxiny vyvolávající zánět střevní sliznice, především tlustého střeva. Většina toxigenních kmenů produkuje toxiny A a B, přičemž toxin A je enterotoxin, toxin B je cytotoxin. Oba účinkují synergicky, narušují cytoskelet epiteliálních buněk a způsobují jejich nekrózu, rozrušují buněčná spojení a zvyšují epiteliální permeabilitu. Současně indukují i sekreci cytokinů (IL-8) s následnou zánětlivou infiltrací sliznice neutrofily, a tím vyvolávají zánět střevní stěny. Některé kmeny tvoří i tzv. binární toxin, jehož účinek zatím není zcela objasněn, ale kmeny s jeho

produkcí mají vyšší virulenci a vyvolávají epidemie onemocnění s těžším průběhem a vyšší mortalitou [19, 20].

### **2.3. Rizikové faktory**

Nejvýznamnějšími rizikovými faktory pro rozvoj CDI je užívání antibiotik, věk pacienta nad 65 let a hospitalizace ve zdravotnickém zařízení [21]. Vznik CDI byl popsán téměř po všech druzích antibiotik, včetně těch, které se používají pro léčbu této infekce (metronidazol, vankomycin). Nejvyšší riziko spojené s rozvojem CDI však mají širokospektré peniciliny, cefalosporiny 2. a 3. generace, klindamycin a fluorochinolony [22, 23, 24]. V průběhu užívání antibiotik je u pacientů riziko rozvoje postantibiotické klostridiové kolitidy asi 7-10krát vyšší oproti běžné populaci a trojnásobně vyšší riziko přetrvává ještě po dobu 1 až 3 měsíců po ukončení antibiotické terapie [25]. Důvodem je střevní dysmikrobie vyvolaná antibiotiky, která je v průběhu podávání ATB nejvýznamnější. V následujících 6 měsících dochází jen k pozvolnému obnovení střevní mikrobiální diverzity do původního stavu. Pacienti ve věkové skupině nad 65 let mají signifikantně vyšší riziko rozvoje CDI. Kromě vyššího věku má na rozvoj infekce vliv i současný vznik přidružených akutních infekčních či neinfekčních stavů [26]. Většina případů CDI má souvislost přímo s hospitalizací nebo kolonizací vzniklou při předešlém pobytu postižené osoby v zdravotnickém zařízení [27]. Riziko rozvoje CDI stoupá přímo úměrně s délkou hospitalizace a odpovídá míře nárůstu kolonizace v populaci pacientů [28, 29]. Během prvních dní pobytu v nemocnici je riziko rozvoje CDI relativně nízké (2-20 %), ale během přibližně měsíční hospitalizace se kolonizuje až 50 % všech pacientů a riziko

rozvoje CDI pak značně narůstá [30, 31, 32]. Kromě výše popsaných rizikových faktorů, i řada dalších přidružených onemocnění a terapeutických zásahů má významný podíl na rozvoj CDI. Jsou to např. idiopatické střevní záněty, operace na gastrointestinálním traktu, onkologická onemocnění, chronická renální insuficience, imunosupresivní léčba, chemoterapie, užívání inhibitorů protonové pumpy a jiné.

## 2.4. Klinický obraz

Infekce vyvolané *C. difficile* mají poměrně širokou škálu klinických projevů od asymptomatické kolonizace zažívacího traktu, až po život ohrožující stavy. Inkubační doba není přesně stanovena, odhaduje se na 3-4 dny. Onemocnění se nejčastěji rozvíjí již v průběhu užívání vyvolávající antibiotické léčby, nebo za několik dní, maximálně za 2-4 týdny po jejím ukončení. Nejčastějším klinickým příznakem je průjem, který může být různé intenzity. Stolice je typicky s příměsí hlenu, výjimečně i s malou příměsí krve a výrazně páchne. Průjmové onemocnění je často doprovázené nechutenstvím, meteorizmem, bolestí břicha a pocitem celkové ztráty energie, někdy se objeví i teploty nebo zvracení. U starších polymorbidních, imobilních pacientů může být prvním příznakem nově vzniklá apatie, zhoršený kontakt, odmítání perorálního příjmu, častý odchod malých porcí stolice mylně považovaný za inkontinenci stolice. Stav může vyústit do rozvoje toxického megakolon, spojeného se septickým šokem a vysokým rizikem úmrtí 38-80 % [33, 34]. Typickým laboratorním projevem v periferní krvi je leukocytóza, často přesahující 25.000/mm<sup>3</sup>, nežádka dosahující až leukemoidních hodnot. Leukocytóza spojená se vzestupem hodnot kreatininu

(> 1,5násobek fyziologických hodnot), klesající hladina albuminu a stoupající hodnota C-reaktivního proteinu v séru svědčí o těžkém průběhu onemocnění [35]. Další parametry spojené s těžkým průběhem jsou uvedeny v tabulce č. 1.

**Tabulka č.1:** Klinické a laboratorní parametry svědčící pro závažný průběh klostridiové kolitidy, adaptováno dle [35].

<b>Těžký průběh CDI</b>
horečka >38,5 °C
zimnice a třesavka
hypotenze, septický šok
známky peritonitidy
paralytický ileus
leukocytóza >15.10 <sup>9</sup> /l
posun doleva (>20 % tyčí)
kreatinin >50 % fyziologické hodnoty
vzestup hladiny laktátémie
pablány na sliznici (koloskopie)
rozpětí tračníku dle RTG, CT

Pro zhodnocení závažnosti probíhající ataky CDI se v praxi osvědčil jednoduchý skórovací systém, označovaný jako ATLAS skóre, využívající pět rychle dostupných klinických a laboratorních parametrů, popisujících stav pacienta v době vzniku onemocnění: věk, konkomitantní antibiotická léčba, počet leukocytů, hladiny kreatininu a albuminu [36, 37]. Lehké případy CDI dosahují skóre 0-2 body, středně závažné infekce 3-5 bodů, těžké infekce  $\geq 6$  bodů (tabulka č. 2). Pacienti s těžkou infekcí mají vysoké riziko úmrtí, spojené s probíhající atakou CDI. Posouzení závažnosti infekce má vliv i na výběr iniciální antibiotické léčby. Fulminantní formy



CDI vznikají u 1-3 % pacientů. Projevují se hypotenzí až septickým šokem a obrazem toxického megakolon, tj. distenzí tlustého střeva >6 cm na zobrazovacích metodách (obrázek č.1, 2, 3), event. střevní perforací s peritonitidou. Takové stavy vyžadují hospitalizaci na lůžku intenzivní péče a chirurgickou intervenci, i přes veškerou poskytnutou péči jsou spojené s vysokým rizikem úmrtí [38, 39].

Kromě závažných forem onemocnění, které nebývají velmi časté, daleko větší výzvou pro terapeutické zvládnutí jsou rekurentní formy onemocnění. Rekurence postihuje 15-30 % pacientů zpravidla do dvou týdnů po ukončení léčby primární ataky CDI. První rekurence navýší riziko opětovného vzplanutí infekce na 40 % a každá další ataka zvýší riziko přibližně o 45-60 % [40]. V běžné klinické praxi není možné odlišit rekurenci CDI v důsledku relapsu (infekce vyvolaná stejným kmenem z důvodu trvání kolonizace) od recidivy v důsledku reinfekce jiným kmenem. Tyto dva jevy lze odlišit pomocí typizace [41].

**Tabulka č. 2:** Klinický skórovací systém ATLAS pro posouzení závažnosti probíhající ataky CDI v době stanovení diagnózy, adaptováno dle [36].

Parametr	0 bodů	1 bod	2 body
Věk	< 60 let	60-79 let	≥ 80 let
Konkomitantní antibiotikum	Ne	--	Ano
Leukocyty	< 16 x 10 <sup>9</sup> /l	16-25 x 10 <sup>9</sup> /l	> 25 x 10 <sup>9</sup> /l
Albumin	> 35 g/l	26-35 g/l	≤ 25 g/l
Sérový kreatinin	≤ 120 μmol/l	121-179 μmol/l	≥ 180 μmol/l

## 2.5. Diagnostika

Dle aktuálně platných doporučených postupů [41, 42] pro průkaz CDI svědčí:

1. klinický obraz odpovídající CDI, současný průkaz toxinů *C. difficile* ve stolici enzymoimunoanalýzou (EIA, ELISA) bez jiné zjištěné příčiny průjmu,
2. klinický obraz odpovídající CDI a zároveň průkaz toxinogenního kmene *C. difficile* na základě kultivace nebo průkazu genetické informace, tj. fragmentů genů pro tvorbu toxinů, založené na amplifikaci a detekci vybraných úseků nukleových kyselin (NAAT, PCR), ideálně s nálezem nízké hodnoty Ct (prahový cyklus PCR),
3. nález pseudomembranózní kolitidy při endoskopii, po kolektomii nebo při pitvě, v kombinaci s kulturačním průkazem toxinogenního kmene *C. difficile*.

Pro **laboratorní diagnostiku** CDI je doporučený vícestupňový testovací algoritmus, protože žádný z doporučených testů samostatně použitých není zároveň dostatečně senzitivní a specifický [43]. Principiálně jsou diagnostické testy zaměřené buď na přímý průkaz patogenu (kultivace, průkaz nukleové kyseliny), nebo jeho produktů, jako je enzym glutamátdehydrogenáza (GDH) nebo toxiny A, B pomocí imunoenzymatických metod (EIA). Nejvhodnější je kombinace dvou testů (v některých případech i tří testů), přičemž první má mít vysokou negativní prediktivní hodnotu (EIA průkaz GDH nebo PCR) a druhý vysokou pozitivní prediktivní hodnotu (EIA průkaz toxinu A, B). V případě negativity prvního testu je CDI vyloučena. Pokud je první, vyhledávací test pozitivní, má se provést druhý, specifický test a v případě jeho positivity je CDI potvrzena. V případě jeho negativity je doporučeno zhodnotit klinický stav, epidemiologická rizika a laboratorní parametry pacienta. Výsledkem mohou být dvě situace:

1. negativita druhého testu (přítomnost toxinů ve stolici) je dána jeho nízkou citlivostí, tj. falešnou negativitou. V tom případě je vhodné provést třetí test, který prokáže přítomnost toxigenního kmene *C. difficile* (např. toxigenní kultivace, případně PCR v případě, že v prvním vyhledávacím kroku byla použita EIA), pokud potvrdíme přítomnost toxigenního *C. difficile* tímto konfirmačním testem, u pacienta přetrvává klinické podezření na CDI a ostatní možné příčiny průjmu byly vyloučeny, je vhodné zahájit léčbu CDI.
2. pacient je kolonizován netoxigenním kmenem *C. difficile*, infekce je nepravděpodobná, je vhodné zaměřit diagnostiku na jinou příčinu a cílenou léčbu nezahajovat.

Laboratorní diagnostika se provádí pouze ze vzorku stolice od pacientů s průjmovým onemocněním (tři a více neformované stolice během 24 hodin) a podezřením na klostridiovou etiologii (viz. rizikové faktory), bez zjevného alternativního vysvětlení. Pouze v případě ileózního stavu a nemožnosti odeslání validního vzorku stolice a současné vysoké suspekci na klostridiový původ, je možné použít hluboký výtěr z konečníku. V tomto případě se jako nejvhodnější jeví použití PCR k průkazu toxigenního kmene, ale i tak je citlivost tohoto testu negativně ovlivněna.

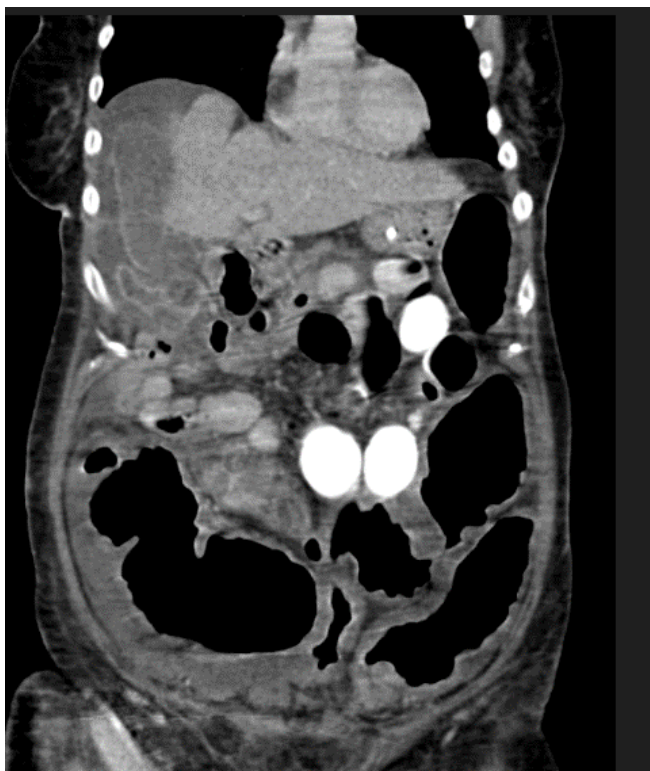
**Zobrazovací metody** jako endoskopie, RTG nativní snímek či CT břicha si i přes nízkou specificitu a senzitivitu zachovávají svoje postavení, především v diagnostice těžkých a komplikovaných forem CDI [44]. Nález vyvýšených, žlutobílých plaků tvořících pseudomembrány na sliznici tlustého střeva při endoskopickém vyšetření je typický pro CDI, ačkoli se může vyskytovat i při jiných onemocněních střeva [45]. Rentgen břicha může prokázat distenzi tlustého střeva či ileózní stav a příležitostně pneumoperitoneum při perforačních komplikacích střeva. Mezi běžné CT nálezy u

pacientů s CDI patří ztlustění stěny, odpovídající slizničnímu a podslizničnímu edému, perikolonické prosáknutí tuku a ascites [46], (obrázek č.1, 2, 3).

**Obrázek č. 1:** RTG nález dilatace a paralytického ileu tenkého a tlustého střeva u pacienta s CDI (snímek z archivu Radiodiagnostické kliniky FNB)



**Obrázek č. 2:** CT obraz toxického megakolon s distenzí tračníku nad 6 cm (snímek z archivu Radiodiagnostické kliniky FNB)



**Obrázek č. 3:** CT obraz kolitidy se zesílením stěny tlustého střeva (snímek z archivu Radiodiagnostické kliniky FNB)



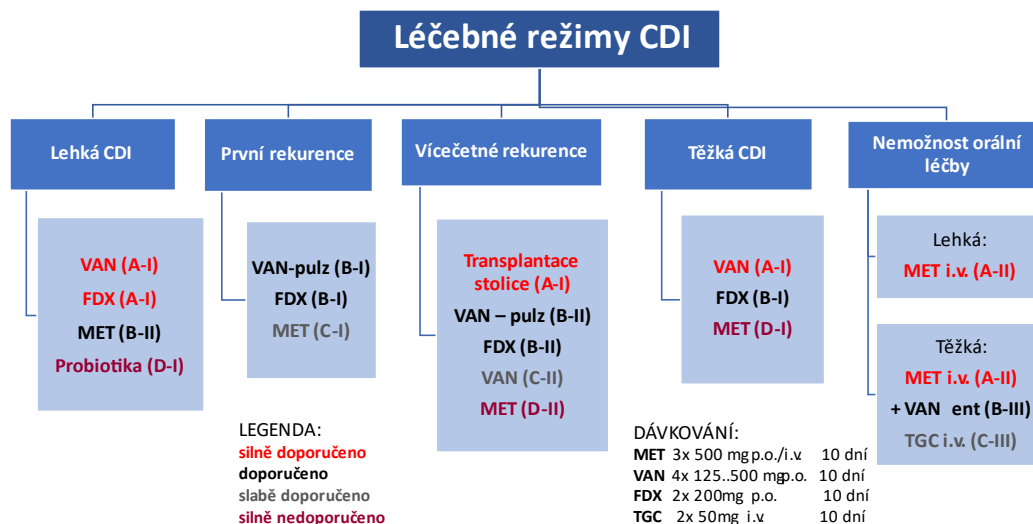
## 2.6 Léčba

### 2.6.1. Antibiotické přístupy k léčbě

Pohled na léčbu CDI v posledních patnácti letech prošel značným vývojem, který je patrný z aktualizací doporučených postupů, jak mezinárodních, tak národních [35, 41, 42, 47, 48, 49, 50, 51]. Volba iniciální antibiotické léčby CDI se řídí závažností probíhajícího onemocnění a pořadím aktuální ataky infekce (obrázek č. 4). Pro léčbu CDI se používají především tři antimikrobiální léčiva: metronidazol, vankomycin a fidaxomicin. Všechny jsou *in vitro* dobře účinné, rezistence *C. difficile* je v našich podmínkách dosud výjimečná. Je nutné ale poznamenat, že vzhledem k nedostupnosti komerčního testu není citlivost k fidaxomicinu v rutinní mikrobiologické laboratoři testována.

V doporučeních z roku 2014 [35] byl metronidazol lékem první volby pro pacienty s nezávažnou CDI a vankomycin byl doporučen pro pacienty se závažnou CDI. Dvě klinické studie, publikované v témže roce, však zjistily, že léčebná účinnost vankomycinu je vyšší v porovnání s metronidazolem [52]. V aktualizovaných doporučených postupech z roku 2021 byl jako lék první volby zařazen fidaxomicin [41]. Fidaxomicin je nové makrocyclické antibiotikum s úzkým spektrem a specifickou antibakteriální aktivitou díky inhibici bakteriální RNA polymerázy [53, 54]. Jeho bezpečnost, srovnatelná účinnost s vankomycinem a zlepšená účinnost v prevenci rCDI v porovnání s vankomycinem byla prokázána v několika klinických studiích [55, 56, 57, 58, 59]. To se odrazilo v aktualizacích terapeutických doporučení evropských i českých, které jsou adaptovány na naše podmínky [41, 42].

**Obrázek č. 4.:** Terapeutické schéma léčby klostridiové kolitidy (CDI), adaptováno dle [48].



**Metronidazol** je nejdéle používaným přípravkem, je levný a široce používaný v terapii různých anaerobních infekcí. Standardní dávkovací režim je 500 mg každých 8 hod. Po orálním podání se antibiotikum z více než 90 % vstřebá do krevního řečiště, proto orální i parenterální terapie jsou prakticky stejně účinné. Do střevního lumen se z krve vyloučí jen zlomek podané látky. Hladiny metronidazolu ve stolici proto bývají nízké, přibližně 100x až 1000x nižší než hladiny orálně podávaného vankomycinu nebo fidaxomicinu [60]. Vzhledem k omezenému průniku do střevního traktu se metronidazol považuje za málo spolehlivý lék pro klostridiovou kolitidu, vhodný pouze pro terapii lehkých forem nemoci, které pacienta obtěžují, ale neohrožují [43]. Léčebný účinek metronidazolu se projeví až po několika dnech terapie, zpravidla mezi 5.-7. dnem.

**Vankomycin** patří mezi záložní antibiotika, používá se zejména k léčbě těžkých infekcí vyvolaných grampozitivními bakteriemi. Při orálním podávání se vankomycin nevstřebává z gastrointestinálního traktu, pokud není stěna střeva významně narušena. Riziko nežádoucích účinků (nefrotoxicita, ototoxicita, red man syndrom, alergie) je z tohoto důvodu zanedbatelné. CDI je jedinou indikací pro perorální podání vankomycinu. Standardní dávkování je 125 mg každých 6 hodin, přičemž pacientovi lze podat buď roztok vzniklý naředěním prášku pro infuze, nebo enterosolventní kapsle, připravené z nenaředěného prášku v lékárně. Vankomycin ve formě tablet není v ČR prozatím dostupný. Léčebný účinek vankomycinu nastupuje během 2-5 dnů. Hlavní nevýhodou vankomycinu je riziko prohloubení dysmikrobie, což vyplývá z jeho silného baktericidního působení na většinu grampozitivních bakterií, které jsou ve střevním traktu přítomny. Ačkoliv je vankomycin neúčinný na gramnegativní bakterie, jeho vysoká koncentrace ve střevě může potlačit přítomnost bakterií skupiny *Bacteroides/Prevotella* [61]. I když vankomycin dokáže mnozí se klostridia ve střevě spolehlivě zahubit, následná dysmikrobie způsobí, že pacient je náchylný k rekurenci nemoci. Někteří autoři proto doporučují postupné vysazování vankomycinu po dobu několika týdnů. Nejčastěji citované schéma zařazuje po standardní desetidenní terapii ještě podávání 125 mg vankomycinu 2x denně po dobu jednoho týdne, dále 1x denně opět po dobu 1 týdne a posléze podávání této dávky v intervalech 2-3 dnů po dobu 2-8 týdnů [48]. Uvedený postup má zabránit rekurenci onemocnění a současně dovolit postupné osídlení střeva fyziologickou flórou. Prolongovaná léčba může dosáhnout 80% úspěšnosti [62], je však spojená s rizikem selekce enterokoků rezistentních k vankomycinu (VRE).

**Fidaxomicin** byl do terapie CDI zaveden nejpozději, v ČR se používá od roku 2013. Jeho spektrum účinku je na rozdíl od předchozích přípravků velmi úzké,



zahrnuje klostridia a několik málo dalších rodů (*Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Bifidobacterium*). Díky úzkému spektru účinku neprohlubuje tato léčba dysmikrobii a nepodporuje vznik rekurencí. Antibiotikum se nevstřebává z GIT a vykazuje jen minimum nežádoucích účinků. Jeho dávkování je 2 x 200 mg denně. Klinický účinek se zpravidla dostavuje již během 24-48 hodin, je tedy rychlejší než u vankomycinu nebo metronidazolu. [63, 64, 65]. Jeho hlavní nevýhodou je poměrně vysoká cena; z toho důvodu se jeho podávání v běžné praxi omezuje především na případy mnohočetných rekurencí CDI. Jak ale bylo dokázáno, při léčbě rCDI je i účinnost fidaxomicinu limitovaná [66].

Pro úplnost je namístě krátce zmínit ještě dvě další antibiotika, která jsou k léčbě CDI někdy využívána.

**Rifaximin** je derivát rifampicinu. Odlišuje se od něj tím, že se nevstřebává z GIT, při jeho podávání tedy nehrozí nebezpečí toxicity ani lékových interakcí. Musíme však upozornit na skutečnost, že v ČR je více než polovina izolátů *C. difficile* rezistentních k tomuto antibiotiku [67]. Rifaximin se proto považuje za zcela nespolehlivý pro empirickou terapii CDI. Další jeho nevýhodou je fakt, že není pro léčbu CDI registrován kvůli absenci relevantních klinických studií.

**Tigecyklin** je speciálně upravené tetracyklinové antibiotikum používané pro léčbu multirezistentních bakterií a současně působí i na *C. difficile*. Podává se pouze v parenterální formě. Po nitrožilním podání se dostává do střevního traktu jednak žlučovými cestami, jednak přímo jako součást zánětlivého exsudátu. Evropské kmeny *C. difficile* jsou zatím k tigecyklinu výborně citlivé. Tigecyklin je spolu s metronidazolem jediným účinným antibiotikem proti CDI, které může být aplikováno u nemocných, kde došlo k poruše nebo zástavě střevní peristaltiky a tím

nedostupnosti perorálně podaných antiinfektiv. Dostupná data naznačují, že tigecyklin oproti metronidazolu dosahuje ve střevním traktu vyšší koncentrace a působí rychleji a spolehlivěji [68, 69, 70, 71]. Zatím však nebyly provedeny klinické randomizované studie. Nicméně je zcela namístě považovat tigecyklin za vhodný a perspektivní lék a v souladu s expertními doporučeními jej používat pro záchrannou léčbu pacientů s CDI a nemožností orální terapie [35].

#### 2.6.2. Neantibiotické přístupy k léčbě

**Fekální bakterioterapie** (FMT, *faecal microbiota transplantation*) je v současnosti považována za nejúčinnější terapeutickou metodu prevence rekurentních forem CDI, jejíž účinnost i bezpečnost byla ověřena řadou studií [72, 73]. Účelem FMT je obnovení narušeného střevního ekosystému instilací roztoku stolice od zdravého, předem vyšetřeného dárce, do střeva pacienta. Tato metoda neslouží k terapii klostridiové kolitidy, ale k prevenci rekurence onemocnění po předchozí specifické antibiotické léčbě CDI. FMT je nejúčinnější metodou především u vícečetných rekurencí ( $\geq 2$  ataky) CDI [74]. Pro bezpečnou aplikaci této metody byly vytvořeny jak evropské tak české doporučené postupy [75, 76].

**Monoklonální protilátky** jsou nejnovějším terapeutikem, které je indikováno k prevenci rekurence CDI u pacientů vysoce ohrožených jejím vznikem. Do této skupiny je zařazen bezlotoxumab. Jedná se lidskou monoklonální protilátku zaměřenou proti B toxinu *C. difficile*. Aplikuje se intravenózně a významně snižuje počet rekurencí CDI u pacientů s rizikovými faktory, léčených standardním antibiotickým režimem [77]. V České republice je zatím nedostupný a jeho použití v běžné praxi budou limitovat i vysoké náklady.

### 2.6.3 Význam probiotik v prevenci CDI

Probiotické preparáty se v běžné klinické praxi indikují u hospitalizovaných pacientů v prevenci postantibiotických průjmů a CDI. Výsledky recentní studie, zkoumající vliv přípravků s obsahem laktobacillů a bifidobakterií na snížení incidence CDI, neprokázaly přínos tohoto opatření pro prevenci CDI [78]. Pouze užívání preparátů s obsahem probiotické kvasinky *S. boulardii* vedlo ke snížení rizika vzniku CDI v průběhu hospitalizace [79]. Navíc probiotika mohou výrazně opožďovat nebo zamezit plnou rekonstituci střevního mikrobiomu po podání antibiotik v porovnání s výborným efektem FMT [80]. Evropská, americká i česká doporučení obecně nedoporučují probiotika pro rutinní léčbu a profylaxi CDI pro nedostatek přesvědčivých důkazů o jejich přínosu [41, 42, 48].

## 2.7 Prevence šíření *C. difficile*

Pacient se symptomatickou CDI je vysoce infekční vzhledem k masivnímu šíření spor do okolí. Základním preventivním opatřením k zamezení dalšího šíření je izolace pacienta ideálně na jednolůžkovém pokoji a používání jednorázových ochranných pomůcek ošetřujícím personálem a návštěvami (rukavice, pláště), a to po celou dobu průjmové ataky. Po kontaktu s pacientem je nutné provést dezinfekci rukou tekoucí vodou a mýdlem k mechanickému odstranění spor *C. difficile*. Alkoholové dezinfekční prostředky spory neničí, naopak přispívají k jejich snadnější germinaci. Infekčnost pacienta po odeznění akutního průjmu prudce klesá, proto se izolační opatření mohou ukončit v případě, že má pacient dva dny formovanou stolici [81]. Po ukončení léčby se nedoporučuje provedení kontrolního vyšetření stolice pro ověření úspěšnosti léčby pacienta (stolice může být několik dní pozitivní jak

na průkaz *C. difficile* GDH, tak i toxinů či genů pro jejich produkci). Pro dezinfekci povrchů a prostoru je doporučeno používat dezinfekční prostředky s deklarovanou sporicidní účinností [82]. Izolační a bariérová opatření mají být zavedena u každého pacienta s podezřením na CDI, ukončit se mohou až po vyloučení infekce, nebo dále pokračují v případě jejího potvrzení. Po propuštění pacienta má být provedena důkladná terminální dezinfekce všech povrchů v pokoji, kde pacient pobýval [83].

### 3. Cíle práce

Předkládaná práce sledovala dva výzkumné cíle. Prvním bylo zjistit incidenci CDI na Klinice infekčních nemocí, Fakultní nemocnice Bulovka, vyhodnotit klinické a epidemiologické charakteristiky pacientů s prokázanou CDI, provést podrobnou molekulární analýzu získaných izolátů *C. difficile* a výsledky léčby pacientů korelovat s PCR-ribotypem. Druhým cílem bylo zhodnotit účinnost různých antibiotických režimů pro léčbu CDI v závislosti na počtu epizod a závažnosti onemocnění CDI.

### 4. Použité metody

Studie byla naplánovaná jako prospektivní observační kohortová studie a probíhala ve dvou na sebe navazujících fázích. Obě části studie byly provedeny na Klinice infekčních nemocí Fakultní nemocnice Bulovka v Praze. Klinika disponuje 168 lůžky a v roce 2013 bylo přijato 5 159 pacientů.

V první fázi, od ledna do prosince 2013, byla provedena studie mapující incidenci CDI, která byla doplněna o molekulární analýzu získaných kmenů *C. difficile* a

korelaci vlivu ribotypů na průběh onemocnění a léčebné výsledky. Do této části studie byli zařazeni pacienti ve věku  $\geq 2$  roky, kteří byli přijati s průjemem, nebo u nichž se průjem objevil během hospitalizace na klinice infekčních nemocí a současně byla laboratorně potvrzená CDI.

Vzorky stolice byly vyšetřeny na Oddělení klinické mikrobiologie Fakultní nemocnice Bulovka na přítomnost glutamátdehydrogenázy (GDH) a volných toxinů A/B pomocí kombinovaného imunoenzymatického testu (C. diff Quik Chek Complete®, Alere), v souladu s návodem výrobce. Všechny GDH pozitivní vzorky byly po alkoholovém šoku kultivovány anaerobně na selektivním médiu pro *C. difficile* (Oxoid). Produkce toxinů u izolátů *C. difficile* vykultivovaných z GDH pozitivních a toxin-negativních vzorků byla detekována pomocí stejného testu, který byl použit k vyšetřování stolic.

DNA z izolátů *C. difficile* byla extrahována izolační soupravou Qiagen pomocí automatického purifikačního systému QIAcube (Qiagen) a odeslána do Ústavu lékařské mikrobiologie 2. LF UK a FN Motol k další molekulární analýze. Analýza PCR-ribotypů byla provedena v souladu se standardními doporučeními Evropské sítě pro sledování *C. difficile* (ECDIS-net). Byl použit protokol s primery, popsany dříve Stubbsem et al. [84]. Detekce naamplifikovaných produktů byla provedena pomocí fragmentové analýzy s využitím kapilární elektroforézy s polymerem POP 7 a LIZ 1200 (Applied Biosystems) jako velikostním standardem. Výsledné elektroforetické profily byly porovnány s databází Webribo [85] pro stanovení konkrétního ribotypu. Přítomnost genů odpovědných za tvorbu toxinů, konkrétně *tcdA* (toxin A), *tcdB* (toxin-B), *cdtA* a *cdtB* (binární toxin), byla detekována pomocí multiplexové PCR [86]. Pro zjištění molekulárního mechanismu rezistence vůči fluorochinolonům bylo provedeno sekvenování části genů *gyrA* a *gyrB* a pro detekci mutací vedoucí

k rezistenci vůči rifampicinu byla sekvenována oblast genu *rpoB* [87, 88]. Získané sekvence byly po softwarovém zpracování (Sequencing Analysis Software v 5.4, Applied Biosystems) porovnány s referenční sekvencí NCBI (*Peptoclostridium difficile* 630, kompletní genom NC\_009089.1). Molekulární mechanismus rezistence vůči antibiotikům skupiny makrolid/linkosamid/streptogramin B (MLSB) byl zkoumán pomocí amplifikace fragmentu genu *ermB* [89]. Produkty PCR byly vizualizovány elektroforézou v agarózovém gelu. Pro určení genetické příbuznosti izolátů RT176 byla použita multilokusová analýza tandemových repetic (MLVA Multiple Locus Variable-number Tandem Repeat Analysis). Celkem bylo amplifikováno a sekvenováno 8 lokusů s variabilním počtem tandemových repetic (VNTR), konkrétně A6Cd, B7Cd, C6Cd, E7Cd, F3Cd, G8Cd, H9Cd [90] a CDR 60 [91], se změnou reverzního primeru pro lokus G8Cd [92]. Pro určení počtu tandemových opakování bylo provedeno manuální hodnocení po softwarovém zpracování (Sequencing Analysis Software v5.4, Applied Biosystems). Pro grafické znázornění genetické příbuznosti byl následně s pomocí programu Bionumerics v5.0 vygenerován minimum spanning tree (MST) s využitím Manhattanova koeficientu. Klonální komplex (CC) byl určen v případě, že součet tandemových repetic (STRD) byl 0-2. V případě, že STRD byl 3-10, jednalo se o blízce geneticky příbuzný klastr.

Incidence případů CDI byla vypočítána pomocí údajů o počtu pacientů, celkovém počtu ošetrovacích dnů, počtu celkem provedených testů a pozitivních výsledků testů na *C. difficile* GDH a toxiny A/B v roce 2013 [93].

U pacientů byly sledovány vybrané demografické ukazatele, rizikové faktory, závažnost průběhu onemocnění, vznik komplikací a počet úmrtí v souvislosti s CDI. Případ CDI byl definován jako pacient s průjmem a pozitivním laboratorním průkazem CDI, tj. pozitivitou testů na přítomnost *C. difficile* GHD a toxinů A/B nebo

pozitivitou *C. difficile* GDH a detekcí toxigenního *C. difficile* kultivací. Recidiva CDI byla definována jako opakující se epizoda onemocnění v časovém období 2 až 8 týdnů po předchozí atace [47]. Pro určení závažnosti CDI jsme použili hodnocení ATLAS skóre [36] a kritéria ESCMID [35]. Z epidemiologického hlediska byly případy CDI rozděleny na tři kategorie: infekce spojené se zdravotní péčí (HA-CDI), komunitní infekce (CA-CDI) a případy, u kterých se projevovaly příznaky onemocnění do 48 hodin od přijetí do zdravotnického zařízení, nebo ty, u kterých se objevily symptomy v období 4 týdnů až 3 měsíců po propuštění ze zdravotnického zařízení a byly uzavřeny jako CDI s nejasným původem vzniku onemocnění (UA-CDI) [94, 95]. Data byla získána z nemocničních informačních systémů a od ošetřujících lékařů.

Druhá fáze studie zabývající se účinností antibiotických režimů u pacientů s prokázanou klostridiovou kolitidou byla provedena v období od října 2013 do března 2016. Do studie byli zařazeni dospělí pacienti ( $\geq 18$  let) s diagnózou CDI. V této části studie byl případ CDI definován jako přítomnost příznaků (nejméně tři řídké stolice během 24 hodin) a pozitivní laboratorní test na CDI: současná detekce GDH a toxinů A/B pomocí stejného testu, jak popisováno (C.diff Quik Chek Complete®, Alere, USA). Závažnost CDI byla opět stanovena pomocí skórovacího systému ATLAS; závažný případ CDI podle skóre ATLAS byl definován jako  $\geq 6$  [36]. Pro posouzení závažnosti komorbidit a jejich možného vlivu na výsledek léčby, byl u každého pacienta vypočítán index komorbidit dle Charlsonové [96].

Pacienti s diagnózou CDI byli rozděleni do čtyř skupin podle antibiotického režimu. V průběhu studie proběhla aktualizace doporučených postupů pro léčbu klostridiové kolitidy [35, 51] a léčebné režimy u pacientů byly indikovány dle aktuálně platných doporučení v době přijetí pacienta k hospitalizaci. Současně

byla zohledněna závažnost CDI a počet předchozích epizod této infekce. Pacienti byli léčeni jedním z následujících režimů: perorálním metronidazolem 500 mg třikrát denně, perorálním vankomycinem 125 mg čtyřikrát denně, kombinací perorálního vankomycinu a perorálního či intravenózního metronidazolu nebo perorálním fidaxomicinem 200 mg dvakrát denně [35, 47]. Doba léčby byla ve všech skupinách 10 dní. Po ukončení léčby probíhalo 60denní sledování pacientů. Efekt léčby byl hodnocen jako trvalé klinické vyléčení CDI (pacienti s vymizením průjmu a bez recidivy) nebo recidiva CDI (pacienti, u kterých se opět objevily příznaky onemocnění a byl prokázán pozitivní laboratorní test na CDI).

#### *Statistická analýza*

Rozdíly mezi skupinami byly vyhodnoceny pomocí  $\chi^2$  v případě kategoriálních proměnných a Kruskal-Wallisova testu v případě číselných proměnných. K posouzení souvislosti mezi léčebnými režimy CDI a výsledkem léčby pacientů byla použita logistická regrese. Kromě toho byla provedena analýza podskupin na základě počtu epizod CDI a závažnosti CDI. Hodnota  $p \leq 0,05$  byla považována za statisticky významnou. Analýzy byly provedeny pomocí statistického softwaru R verze 3.5.1. (R score) [97].



## 5. Přehled výsledků

### 5.1. Vyhodnocení první fáze studie

#### 5.1.1 Analýza vzorku stolic na CDI

Celkem bylo testováno 619 vzorků průjmových stolic od pacientů s podezřením na klostridiovou kolitidu. Pozitivita glutamátdehydrogenázy (GDH) byla prokázána u 113 vzorků. Současná pozitivita testu na přítomnost volných toxinů A/B byla zjištěna u 72 vzorků a 41 vzorků bylo na průkaz toxinů negativních. *C. difficile* bylo vykultivováno ze všech 113 vzorků stolice pozitivně testovaných na přítomnost *C. difficile* GDH. Izoláty *C. difficile* z GDH pozitivních a toxin A/B negativních vzorků stolic, byly testovány na přítomnost toxinu A/B (n = 41). Produkce toxinů A/B byla takto prokázána u 39 izolátů *C. difficile* a dva izoláty *C. difficile* byly netoxigenní. CDI bylo laboratorně potvrzeno u 111 pacientů (111/619; 17,9 %).

#### 5.1.2 Molekulární charakterizace izolátů *C. difficile*

Celkem bylo pomocí ribotypizace charakterizováno 111 toxigenních izolátů *C. difficile*, identifikováno bylo 18 různých ribotypů. Pět elektroforetických profilů se neshodovalo s žádným profilem dostupným v databázi a byly tedy určeny jako nové ribotypy. Nejčastějším ribotypem v naší studii byl PCR ribotyp 176, který tvořil 57,7 % (n = 64) izolátů *C. difficile*. Dalšími zjištěnými PCR ribotypy byly: 001 (n = 8; 7,2 %), 002 (n = 7; 6,3 %), 003, 012, 017, 023 (n = 3; 2,7 %), 014, 015, 020, 049 (n = 2; 1,8 %) a 018, 029, 070, 078, 087, 449, AI-9-1 (n = 1; 0,9 %). Přítomnost binárního toxinu byla zjištěna u 69 izolátů *C. difficile* (62,2 %): 176 (n = 64), 023 (n = 3), 078 (n = 1) a nový ribotyp (n = 1) (tabulka č. 3).

Všech 111 izolátů *C. difficile* bylo vyšetřeno i na přítomnost bodových mutací ve fragmentech genů *gyrA*, *gyrB* a *rpoB* a na přítomnost fragmentu genu *ermB*.

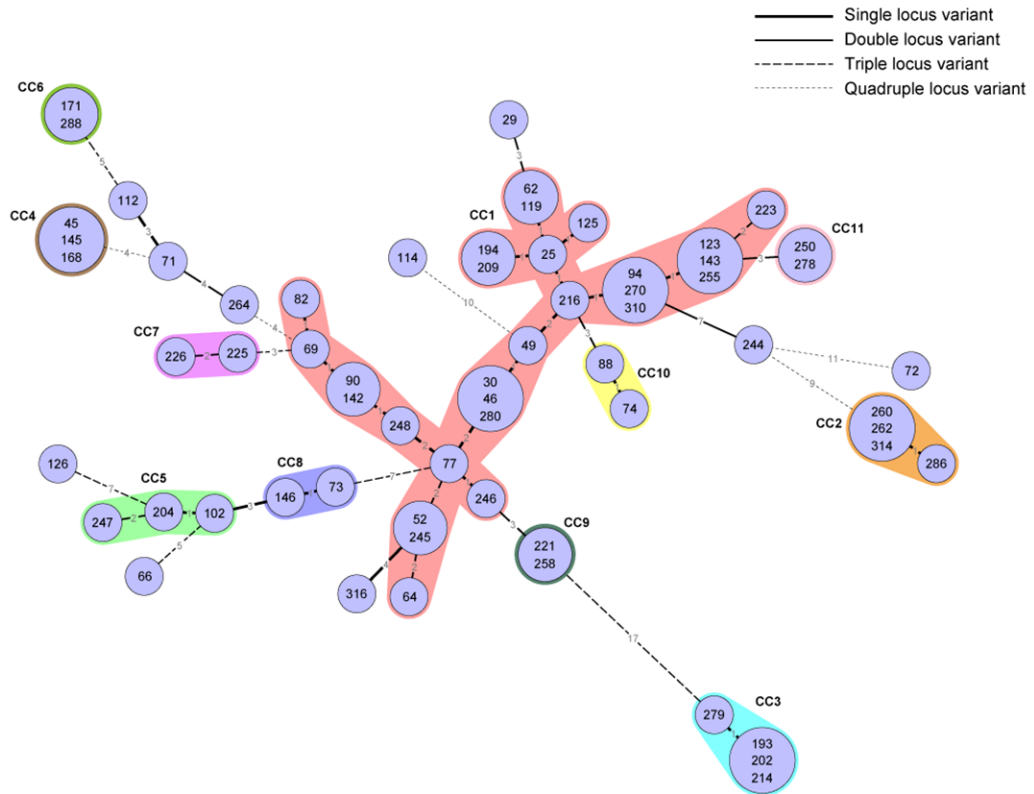
V GyrA byla detekována aminokyselinová záměna Thr82Ile, která byla nalezena u 72 izolátů (64,9 %): 176 (n = 64), 001 (n = 3), nový ribotyp (n = 2) a 012, 017, 049 (n = 1). Ve fragmentu genu GyrB nebyly nalezeny žádné mutace. Tři různé aminokyselinové záměny byly identifikovány u 62 izolátů *C. difficile* (55,9 %) v RpoB. His502Asn spolu s Arg505Lys byly nalezeny u 57 izolátů *C. difficile* (51,4 %): Asp492Glu společně s Arg505Lys u 5 izolátů *C. difficile*: PCR-ribotyp 176 (n = 5; 4,5 %). Přítomnost fragmentu *ermB* byla pozorována u 12 izolátů (10,8 %): 012 (n = 3), 001 (n = 2), 017 (n = 2), 176 (n = 2) a 002, 014, 015 (n = 1) (tabulka č. 3).

**Tabulka č. 3:** Přehled ribotypů a detekovaných aminokyselinových záměn u izolátů *C. difficile*

<b>Ribotypizace (N; %)</b>	<b>Geny binárních toxinů (<i>cdtB</i> a <i>cdtA</i>)</b>	<b>GyrA Thr82Ile</b>	<b>RpoB Arg505Lys a His502Asn</b>	<b>RpoB Arg505Lys a Asp492Glu</b>	<b><i>ermB</i></b>
176 (64; 57,7 %)	ano (64)	64 (57,7 %)	53 (47,8 %)	5 (4,5 %)	2 (1,8 %)
001 (8; 7,2 %)		3 (2,7 %)			2 (1,8 %)
002 (7; 6,3 %)					1 (0,9 %)
003 (3; 2,7 %)					
012 (3; 2,7 %)		1 (0,9 %)	1 (0,9 %)		3 (2,7 %)
017 (3; 2,7 %)		1 (0,9 %)	1 (0,9 %)		2 (1,8 %)
023 (3; 2,7 %)	ano (3)				
014 (2; 1,8 %)					1 (0,9 %)
015 (2; 1,8 %)					1 (0,9 %)
020 (2; 1,8 %)					
049 (2; 1,8 %)		1 (0,9 %)	1 (0,9 %)		
018 (1; 0,9 %)					
029 (1; 0,9 %)					
070 (1; 0,9%)					
078 (1; 0,9%)	ano (1)				
087 (1; 0,9%)					
449 (1; 0,9%)					
AI-9-1 (1; 0,9%)					
Nové (5; 4,5%)	ano (1)	2 (1,8 %)	1 (0,9 %)		
<b>111</b>		<b>72 (64,9 %)</b>	<b>62 (55,9 %)</b>		<b>12 (10,8 %)</b>

Pomocí MLVA jsme identifikovali celkem 11 klonálních komplexů (CC1 = 28 izolátů, CC2 a CC3 = 4 izoláty, CC4 a CC5 = 3 izoláty a CC6-CC11 = 2 izoláty). Počet STRD=10 byl překročen pouze mezi CC9-CC3 (STRD = 17) a izoláty 244 a 72 (STRD = 11) (obrázek č. 5).

**Obrázek č. 5:** Minimum spanning tree izolátů *C. difficile* PCR-ribotypu 176. Čísla v kruhu představují čísla izolátů. Čísla v řádcích představují součet rozdílů tandemových repetic mezi izoláty. Typ přerušované čáry představuje počet lokusů, kde byly nalezeny rozdíly v počtu tandemových repetic.



### 5.1.3. Analýza klinických dat

Na základě diagnostických testů a klinických příznaků byla diagnóza CDI potvrzena u 111 pacientů z 619 vyšetřených (17,9 %). Průměrný věk pacientů s CDI byl 71 let (s rozpětím od 2 do 96 let), medián 76 let a ženy tvořily 56 %. Ve sledovaném období bylo ve Fakultní nemocnici Bulovka hospitalizováno 44 600 pacientů. Nemocnice má celkem 1100 lůžek a vykázala 264 989 ošetrovacích dnů. Incidence CDI na klinice infekčních nemocí v roce 2013 byla 31,7 případů na 10 000 ošetrovacích dnů a 215 případů na 10 000 hospitalizací. Frekvence testování na přítomnost CDI byla 174,4 testů na 10 000 ošetrovacích dnů a 1 199 testů na 10 000 hospitalizací.

Demografické údaje pacientů jsou uvedeny v tabulce č. 4.

**Tabulka č. 4:** Epidemiologické a klinické charakteristiky pacientů v celém souboru a rozdíly mezi skupinami s ribotypem 176 a s ostatními ribotypy.

	Celkem		176		non-176	
	N	%	N	%	N	%
Poměr mužů a žen	49:62	-	27:37	-	22:25	-
Průměrný věk; medián	71; 76	-	77; 80	-	65; 73	-
HA-CDI	63	56,8	49	44,2	14	12,6
CA-CDI	17	15,3	0	-	17	15,3
UA-CDI	31	27,9	15	13,5	16	14,4
Hospitalizace v předchozích 3 měsících	80	72,1	57	51,4	23	20,7
Pobyt v zařízení dlouhodobé péče	29	26,1	20	18	9	8,1
Anamnéza užívání antibiotik (2 měsíce)	101	91,0	60	54,1	41	36,9
Fluorochinolony	33	29,7	24	21,6	9	8,1
Aminopeniciliny	41	36,9	22	19,8	19	17,1
Cefalosporiny	29	26,1	17	15,3	12	10,8
Linkosamidy	9	8,1	6	5,4	3	2,7
Užívání inhibitorů protonové pumpy	49	44,1	30	27	19	17,1
Index komorb.dle Charlesonové, průměr; medián	6,2; 7	-	7,3; 7	-	4,8; 5	-
Imobilita (plná)	34	30,6	23	20,7	11	9,9
Imobilita (částečná)	26	23,4	20	18,0	6	5,4
Těžká CDI	42	37,8	29	26,1	13	11,3
ATLAS skóre 0-2	42	37,8	19	17,1	23	20,7
ATLAS skóre 3-5	53	47,7	32	28,8	21	18,9
ATLAS skóre $\geq$ 6	16	14,4	13	11,7	3	2,7
Leukocyty > 15,109	26	23,4	19	17,1	7	6,3
CRP v séru >100 mg/L	39	35,1	25	22,5	14	12,6
Perforace střeva, toxické megakolon	2	1,8	2	1,8	0	-
Recidiva onemocnění	29	26,1	21	18,9	8	7,2
Úmrtí	24	21,6	16	14,4	8	7,2

HA-CDI byla určena v 63 případech (56,8 %), CA-CDI v 17 případech (15,3 %) a 31 případů (27,9 %) mělo neznámou epidemiologickou souvislost vzniku onemocnění (UA-CDI). Osmdesát pacientů (72,1 %) bylo hospitalizováno v předchozích třech měsících před vznikem onemocnění a v zařízeních dlouhodobé péče pobývalo 29 z nich.

Antibiotika jako rizikový faktor užívalo před rozvojem CDI 101 pacientů (91 %). Nejčastěji užívaná antibiotika v monoterapii či kombinacích byla aminopeniciliny s inhibitory beta-laktamázy (36,9 %), fluorochinolony (29,7 %), cefalosporiny (26,1 %) a linkosamidy (8,1 %). Inhibitory protonové pumpy užívalo 44,1 % pacientů. Sedmdesát dva pacientů (64,8 %) mělo index komorbidit dle Charlsonové 5 a více. Šedesát pacientů (54,1 %) bylo imobilních: z toho 34 plně (30,6 %) a 26 částečně imobilních (23,4 %).

Při použití kritérií ESCMID byla CDI považována za mírnou u 69 pacientů (62,2 %) a za závažnou u 42 pacientů (37,8 %). Při použití skórovacího systému ATLAS mělo 42 pacientů (37,8 %) lehký průběh (ATLAS skóre 0-2), 53 pacientů (47,7 %) středně závažný průběh (ATLAS skóre 3-5) a 16 pacientů (14,4 %) mělo těžký průběh onemocnění (ATLAS skóre  $\geq 6$ ).

Recidivující CDI byla diagnostikována u 29 pacientů (26,1 %). Letalita ve sledovaném období (tj. 8 týdnů po prodělané CDI) byla 21,6 % ( $n = 24$ ). Tricetidenní letalita byla 14,2 % ( $n = 16$ ), kdy v devíti případech byla CDI primární příčinou úmrtí a v sedmi případech CDI k úmrtí přispěla.

Cílená antibiotická terapie CDI byla indikována u 103 pacientů (103/111; 92,8 %). Monoterapie perorálním antibiotikem byla indikována u 51 pacientů (46 %): metronidazol  $n = 44$ , fidaxomicin  $n = 4$  a vankomycin  $n = 3$ ). Kombinovaná léčba perorálním metronidazolem a vankomycinem byla použita u 50 pacientů (45 %).

U dvou pacientů nebyla zavedená terapie účinná, a proto byla změněna na fidaxomicin s dobrým terapeutickým efektem.

Pro zjištění souvislostí mezi vyvolávajícími ribotypy *C. difficile* a klinickým průběhem onemocnění u pacientů byly porovnány údaje pacientů infikovaných RT176 s údaji pacientů infikovaných jinými ribotypy (tabulka č. 4).

Ve skupině pacientů s infekcí vyvolaných PCR-ribotypem 176 byl pozorován vyšší výskyt pacientů s těžkou formou CDI ve srovnání se skupinou pacientů bez průkazu PCR-ribotypu 176: 26,1 % vs. 11,7 % podle kritérií ESCMID a 11,7 % vs. 2,7 % pacientů se skóre ATLAS  $\geq 6$ ; podobný trend vykazovaly i rekurentní CDI (18,9 % vs. 7,2 %) a úmrtí (14,4 % vs. 7,2 %).

## **5.2. Vyhodnocení účinnosti antibiotických režimů**

### *5.2.1. Charakteristika souboru pacientů*

Během třicetiměsíční navazující studie bylo CDI prokázáno u 271 pacientů, z toho 165 žen (60,9 %). Údaje z šedesátidenního následného sledování po prodělání onemocnění byly dostupné u 223 pacientů; 48 pacientů zemřelo (17,7 %). Průměrný věk pacientů byl 75,2 let a medián 78 let. Opakovaná ataka CDI se prokázala u 79 pacientů (29,2 %); první rCDI u 50 pacientů (18,5 %); druhá rCDI u 21 pacientů (7,8 %) a u 8 pacientů (3,0 %) se vyskytla vícenásobná rCDI ( $\geq 3$  epizody). Podle skórovacího systému ATLAS, u 222 pacientů (81,9 %) mělo onemocnění lehký až středně závažný průběh (ATLAS 0-5) a u 49 pacientů (18,1 %) závažný průběh (ATLAS  $\geq 6$ ). Žádný pacient nebyl přijat na jednotku intenzivní péče.

Použité antibiotické režimy a počty pacientů zařazených do jednotlivých léčebných režimů byly následující: metronidazol 79 pacientů (29,2 %), vankomycin 80 pacientů (29,5 %), metronidazol v kombinaci s vankomycinem 55 pacientů

(20,3 %) a fidaxomicin 57 pacientů (21,0 %). Mezi pacienty ve čtyřech léčebných skupinách nebyl zjištěn statistický rozdíl ve věku ( $p = 0,0572$ ), pohlaví ( $p = 0,5238$ ) ani podle indexu komorbidit podle Charlsonové ( $p = 0,5741$ ). Jediný zjištěný rozdíl byl v míře výskytu rCDI v jednotlivých skupinách ( $p = 0,0000$ ); jenom malá část pacientů s rCDI byla léčena metronidazolem.

### *5.2.2. Zhodnocení léčebných výsledků v celém souboru pacientů*

Z počtu 271 léčených pacientů se u 79 vyvinula rCDI (29,2 %) a 48 pacientů zemřelo (17,7 %). Fidaxomicin měl vyšší míru trvalého klinického vyléčení ve srovnání s metronidazolem (45/57, 78,9 % vs. 39/79, 49,4 %; OR 3,8, 95% CI 1,8, 8,4;  $p = 0,0007$ ), ve srovnání s vankomycinem (45/57, 78,9 % vs. 35/80, 43,8 %; OR 4,8, 95% CI 2,2, 10,5;  $p = 0,0001$ ) a s kombinací metronidazolu a vankomycinu (45/57, 78,9 % vs. 25/55, 45,5 %; OR 4,5, 95% CI 2,0,10,3;  $p = 0,0004$ ), (tabulka č. 5, graf č. 2).

Použití fidaxomicinu bylo také spojeno s nižší mírou rCDI ve srovnání s metronidazolem (7/52, 13,5 % vs. 28/67, 41,8 %; OR 0,2, 95% CI 0,1-0,6;  $p = 0,0013$ ), s vankomycinem (7/52, 13,5 % vs. 30/65, 46,2 %; OR 0,2, 95% CI 0,1-0,5;  $p = 0,0003$ ) a s kombinací metronidazolu a vankomycinu (7/52, 13,5 % vs. 14/39, 35,9 %; OR 0,3, 95% CI 0,1-0,8;  $p = 0,0149$ ), (tabulka č.6, graf č. 2)



**Tabulka č. 5:** Srovnání fidaxomicinu s jinými léčebnými režimy. Účinnost trvalé klinické odpovědi byla porovnána pomocí jednorozměrné logistické regresní analýzy. CDI: infekce *Clostridioides difficile*; OR: poměr šancí; CI: Interval spolehlivosti; FDX: fidaxomicin; MTZ: metronidazol; VAN: vankomycin. Statisticky významné výsledky jsou zvýrazněny tučně.

Poznámka: V podskupině pacientů s mnohočetnými recidivami CDI nebyl žádný pacient léčen metronidazolem.

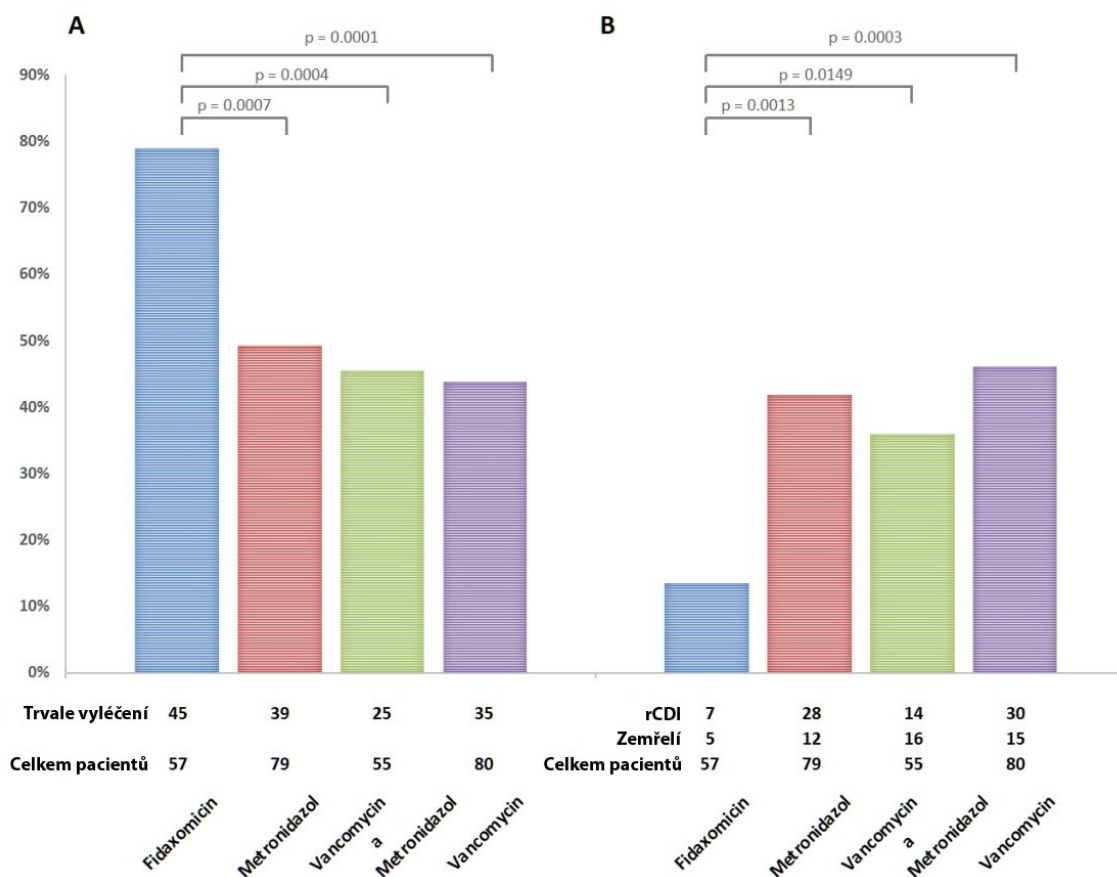
Trvalá klinická odpověď	FDX vs MTZ		FDX vs VAN		FDX vs MTZ a VAN	
	OR (95% CI)	p-hodnota	OR (95% CI)	p-hodnota	OR (95% CI)	p-hodnota
Celková populace	3,8 (1,8, 8,4)	<b>0,0007</b>	4,8 (2,2, 10,5)	<b>0,0001</b>	4,5 (2,0, 10,3)	<b>0,0004</b>
Počáteční epizoda CDI	3,5 (1,1, 11,7)	<b>0,0380</b>	4,7 (1,4, 16,0)	<b>0,0136</b>	3,3 (0,9, 12,1)	0,0678
První recidiva CDI	14,2 (1,8, 109,9)	<b>0,0112</b>	13,2 (2,8, 62,7)	<b>0,0011</b>	9,4 (1,9, 46,4)	<b>0,0057</b>
Opakovaná recidiva CDI	-		0,5 (0,1, 5,6)	0,5905	10,4 (0,9, 117,2)	0,0581
Nezávažná CDI	3,9 (1,6, 9,7)	<b>0,0027</b>	5,7 (2,3, 14,0)	<b>0,0002</b>	3,8 (1,4, 9,9)	<b>0,0079</b>
Těžká CDI	12,5 (1,1, 143,4)	<b>0,0425</b>	2,8 (0,5, 14,9)	0,2399	15,0 (1,3, 169,9)	<b>0,0287</b>

**Tabulka č.6:** Srovnání fidaxomicinu s jinými léčebnými režimy. Míra recidiv byla porovnána pomocí jednorozměrné logistické regresní analýzy. CDI: infekce *Clostridioides difficile*; OR: poměr šancí; CI: interval spolehlivosti; FDX: fidaxomicin; MTZ: metronidazol; VAN: vankomycin. Statisticky významné výsledky jsou zvýrazněny tučně.

Poznámka: V podskupině pacientů s mnohočetnými recidivami CDI nebyl žádný pacient léčen metronidazolem.

Opakovaná CDI	FDX vs MTZ		FDX vs VAN		FDX vs MTZ a VAN	
	OR (95% CI)	p- hodnota	OR (95% CI)	p- hodnota	OR (95% CI)	p- hodnota
Celková populace	0,2 (0,1, 0,6)	<b>0,0013</b>	0,2 (0,1, 0,5)	<b>0,0003</b>	0,3 (0,1, 0,8)	<b>0,0149</b>
Počáteční epizoda CDI	0,1 (0,0, 0,8)	<b>0,0296</b>	0,1 (0,0, 0,7)	<b>0,0249</b>	0,2 (0,0, 1,9)	0,1563
První recidiva CDI	0,0 (0,0, 0,6)	<b>0,0185</b>	0,0 (0, 0,3)	<b>0,0027</b>	0,1 (0,0, 0,6)	<b>0,0163</b>
Opakovaná recidiva CDI	-		1,9 (0,2, 20,8)	0,5905	0,2 (0,0, 2,6)	0,2162
Nezávažná CDI	0,2 (0,1, 0,6)	<b>0,0036</b>	0,2 (0,1, 0,5)	<b>0,0006</b>	0,4 (0,1, 1,1)	0,0768
Těžká CDI	0,1 (0,0, 1,5)	0,0889	0,3 (0,0, 3,1)	0,2805	0,1 (0,0, 1,1)	0,0556

**Graf č. 2:** Celková populace pacientů s infekcí vyvolanou *Clostridioides difficile* cc(CDI): A: trvalá klinická odpověď, B: recidiva CDI.



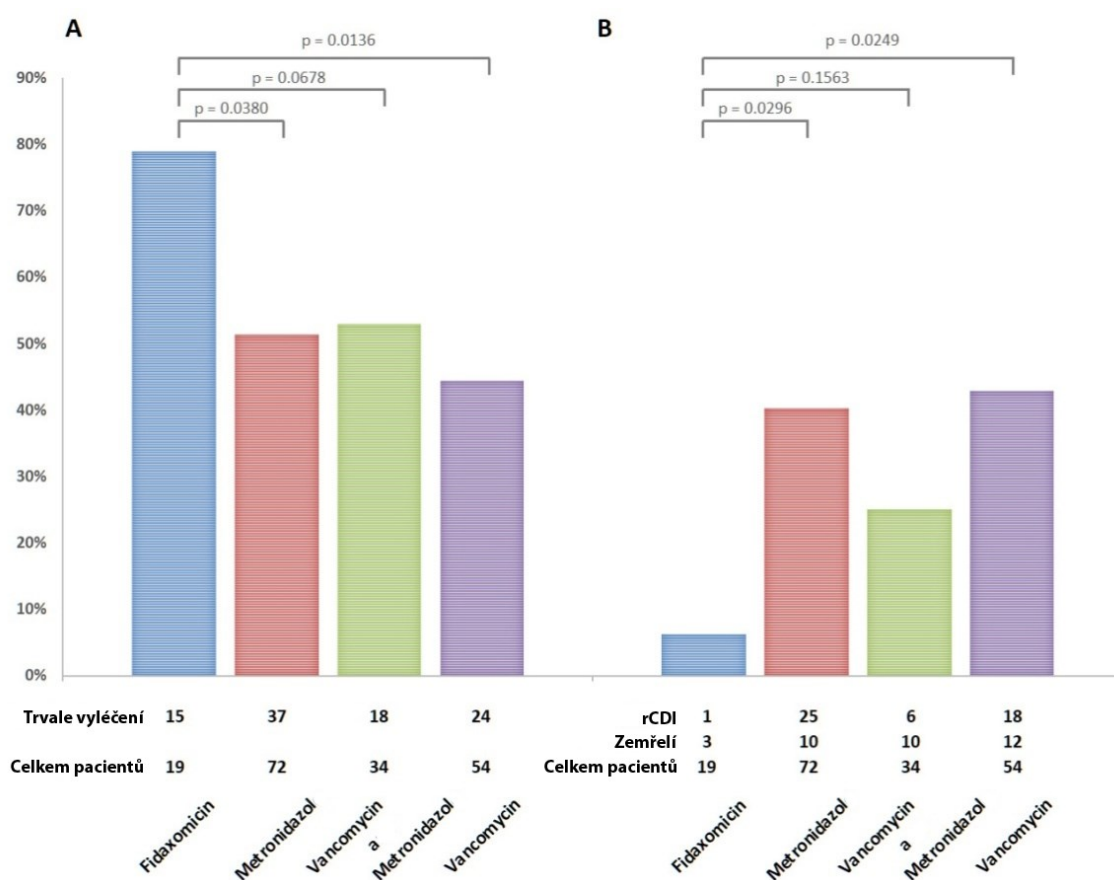
### 5.2.3. Zhodnocení léčebných výsledků u pacientů s iniciální CDI

Analyzovaná podskupina zahrnovala 179 pacientů. V této podskupině se u 50 pacientů vyvinula rCDI (27,9 %) a 35 pacientů zemřelo (19,6 %).

V dvourozměrné analýze bylo více pacientů ve skupině léčených fidaxomicinem trvale vyléčeno ve srovnání se skupinou pacientů léčených metronidazolem (15/19, 78,9 % vs. 37/72, 51,4 %; OR 3,5, 95% CI 1,1, 11,7;  $p = 0,0380$ ) a/nebo vankomycinem (15/19, 78,9 % vs. 24/54, 44,4 %; OR 4,7, 95% CI 1,4, 16,0;  $p = 0,0136$ ). Významný rozdíl nebyl zjištěn mezi skupinou pacientů léčených fidaxomicinem a kombinací vankomycinu a metronidazolu (tabulka č. 5, graf č. 3).

V prevenci první recidivy CDI vykazoval fidaxomicin lepší výsledky než metronidazol (1/16, 6,3 % vs. 25/62, 40,3 %; OR 0,1, 95% CI 0,0, 0,8; p = 0,0296) a než vankomycin (1/16, 6,3 % vs. 18/42, 42,9 %; OR 0,1, 95% CI 0,0, 0,7; p = 0,0249). Nebyl zjištěn žádný rozdíl mezi fidaxomicinem a kombinací vankomycinu a metronidazolu, (tabulka č. 6, graf č. 3).

**Graf č. 3:** Počáteční epizoda infekce *Clostridioides difficile* (CDI):  
A: trvalá klinická odpověď, B: recidiva CDI.



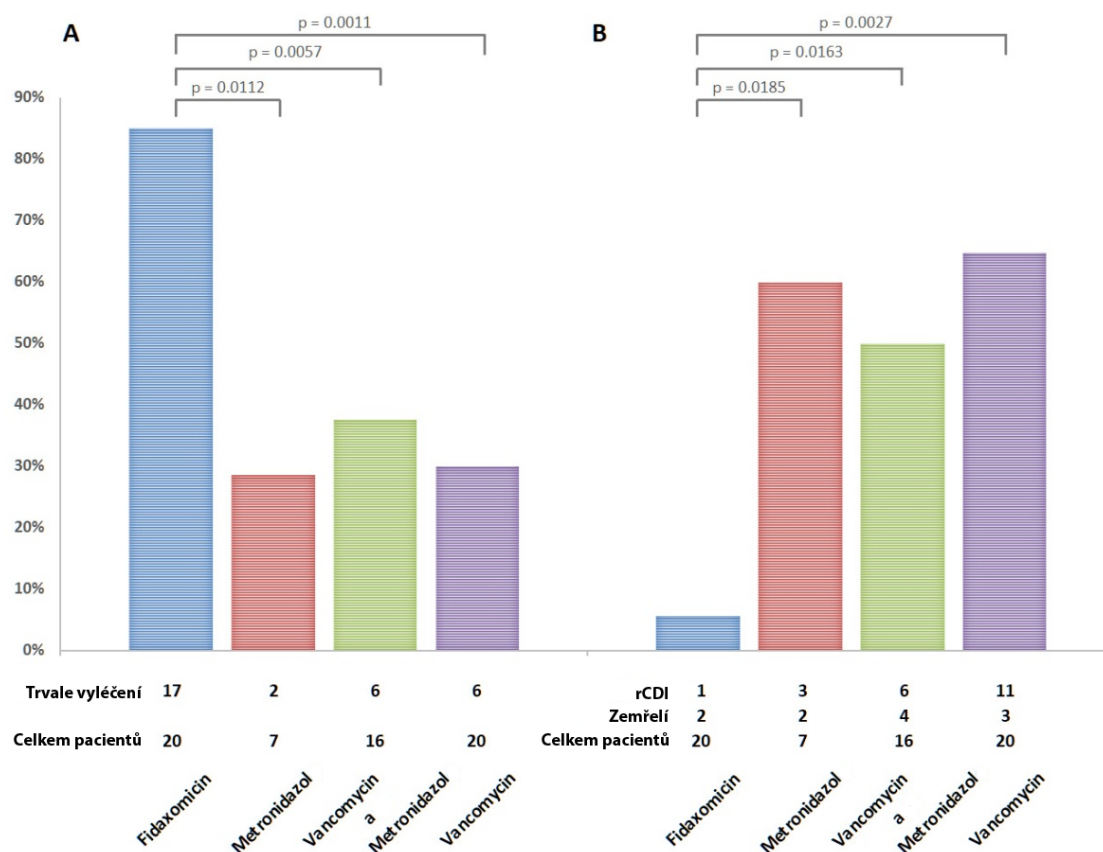
#### 5.2.4. Zhodnocení léčebných výsledků u pacientů s první recidivou CDI

Podskupina pacientů s první recidivou CDI zahrnovala 63 pacientů. V této podskupině se u 21 pacientů vyvinula druhá rCDI (33,3 %) a 11 pacientů zemřelo (17,5 %).

Při porovnání účinnosti doporučených léčebných režimů CDI byl fidaxomicin účinnější než metronidazol (17/20, 85 % vs. 2/7, 28,6 %; OR 14,2., 95 % CI 1,8, 109,9;  $p = 0,0112$ ), než vankomycin (17/20, 85 % vs. 6/20, 30 %; OR 13,2, 95 % CI 2,8, 62,7;  $p = 0,0011$ ) a než kombinace metronidazolu a vankomycinu (17/20, 85 % vs. 6/16, 37,5 %; OR 9,4, 95 % CI 1,9, 46,4;  $p = 0,0057$ ), (tabulka č. 5, graf č. 4).

Podobné výsledky, které poukázaly na lepší účinnost fidaxomicinu, byly zjištěny i v prevenci následující epizody CDI; fidaxomicin vs. metronidazol (1/18, 5,6 % vs. 3/5, 60,0 %; OR 0,0, 95 % CI 0,0, 0,6;  $p = 0,0185$ ), vs. vankomycin (1/18, 5,6 % vs. 11/17, 64,7 %; OR 0,0, 95 % CI 0, 0,3;  $p = 0,0027$ ) a vs. kombinace metronidazolu a vankomycinu (1/18, 5,6 % vs. 6/12, 50,0 %; OR 0,1, 95 % CI 0,0, 0,6;  $p = 0,0163$ ), (tabulka č. 6, graf č. 4).

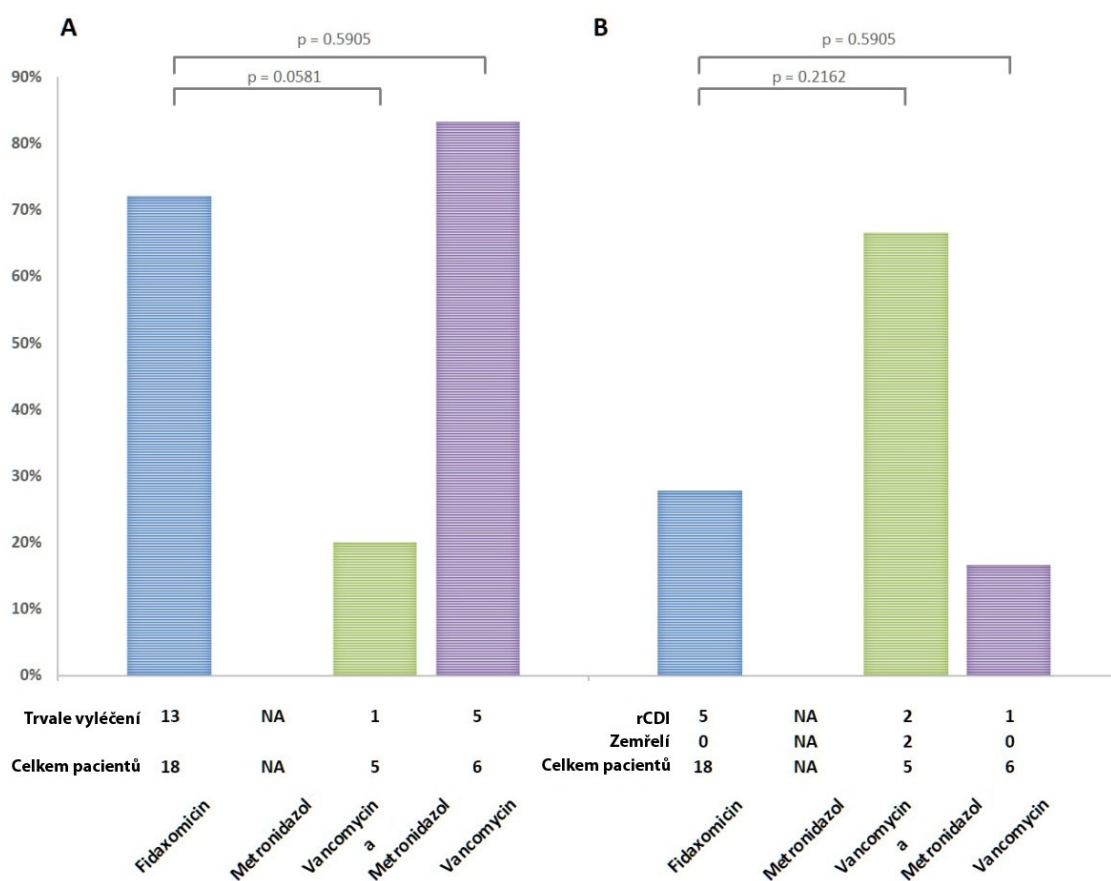
**Graf č. 4:** První recidiva infekce *Clostridioides difficile* (CDI):  
A: trvalá klinická odpověď, B: druhá recidiva CDI.



### 5.2.5. Zhodnocení léčebných výsledků u pacientů s opakovanou recidivou CDI

Tato podskupina zahrnovala 29 pacientů se dvěma nebo více epizodami rCDI; z nich osm pacientů prodělalo další epizodu rCDI (27,6 %) a dva pacienti zemřeli (6,9 %). Žádný pacient nebyl léčen metronidazolem. Při porovnání účinnosti mezi jednotlivými léčebnými režimy nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi fidaxomicinem, vankomycinem nebo kombinací metronidazolu a vankomycinu, jak pro trvalé vyléčení, tak pro prevenci rCDI (tabulky č. 5 a 6, graf č. 5).

**Graf č. 5:** Vícenásobná rekurence infekce *Clostridioides difficile* (CDI):  
A: trvalá klinická odpověď, B: další recidiva CDI.



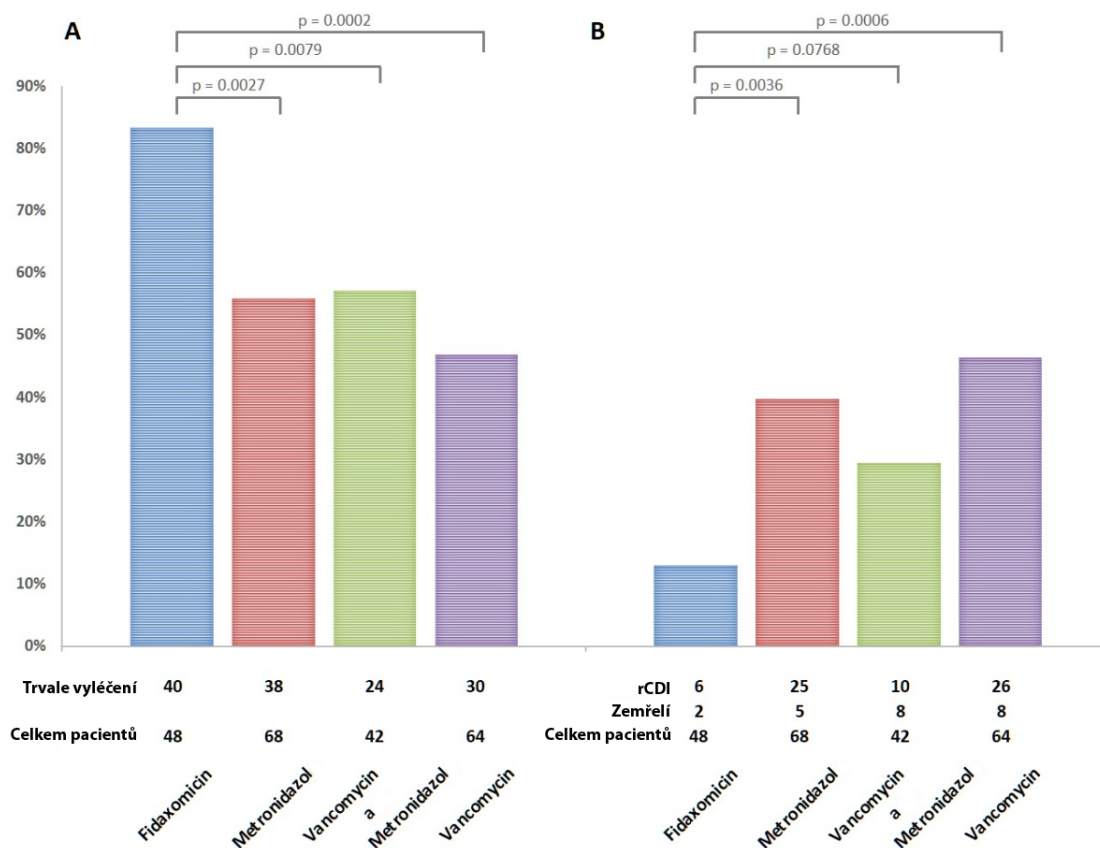
### 5.2.6 Zhodnocení léčebných výsledků u pacientů s nezávažným průběhem CDI

Analyzovaná podskupina zahrnovala 222 pacientů s ATLAS skóre 0-5. U 67 pacientů v této podskupině se vyvinula rCDI (30,2 %) a 23 pacientů zemřelo (10,4 %).

V dvojrozměrné analýze pro trvalé vyléčení vykazoval fidaxomicin lepší výsledky než metronidazol (40/48, 83,3 % vs 38/68, 55,9 %; OR 3,9, 95 % CI 1,6, 9,7;  $p = 0,0027$ ), než vankomycin (40/48, 83,3 % vs. 30/64, 46,9 %, OR 5,7, 95 % CI 2,3, 14,0;  $p = 0,0002$ ) a než jejich kombinace (40/48, 83,3 % vs. 24/42, 57,1 %; OR 3,8, 95 % CI 1,4, 9,9;  $p = 0,0079$ ), (tabulka č. 5, graf č. 6).

V prevenci recidivy CDI byl fidaxomicin účinnější než metronidazol (6/46, 13,0 % vs. 25/63, 39,7 %; OR 0,2, (95 % CI 0,1, 0,6;  $p = 0,0036$ ) a než vankomycin (6/46, 13,0 % vs. 26/56, 46,4 %; OR 0,2, (95 % CI 0,1, 0,5;  $p = 0,0006$ ). Mezi fidaxomicinem a kombinací vankomycinu a metronidazolu nebyl pozorován žádný rozdíl (tabulka č. 6, graf č. 6).

**Graf č. 6:** Nezávažná infekce vyvolaná *Clostridioides difficile* (CDI):  
A: trvalá klinická odpověď, B: recidiva CDI.



### 5.2.7. Zhodnocení léčebných výsledků u pacientů s těžkým průběhem CDI

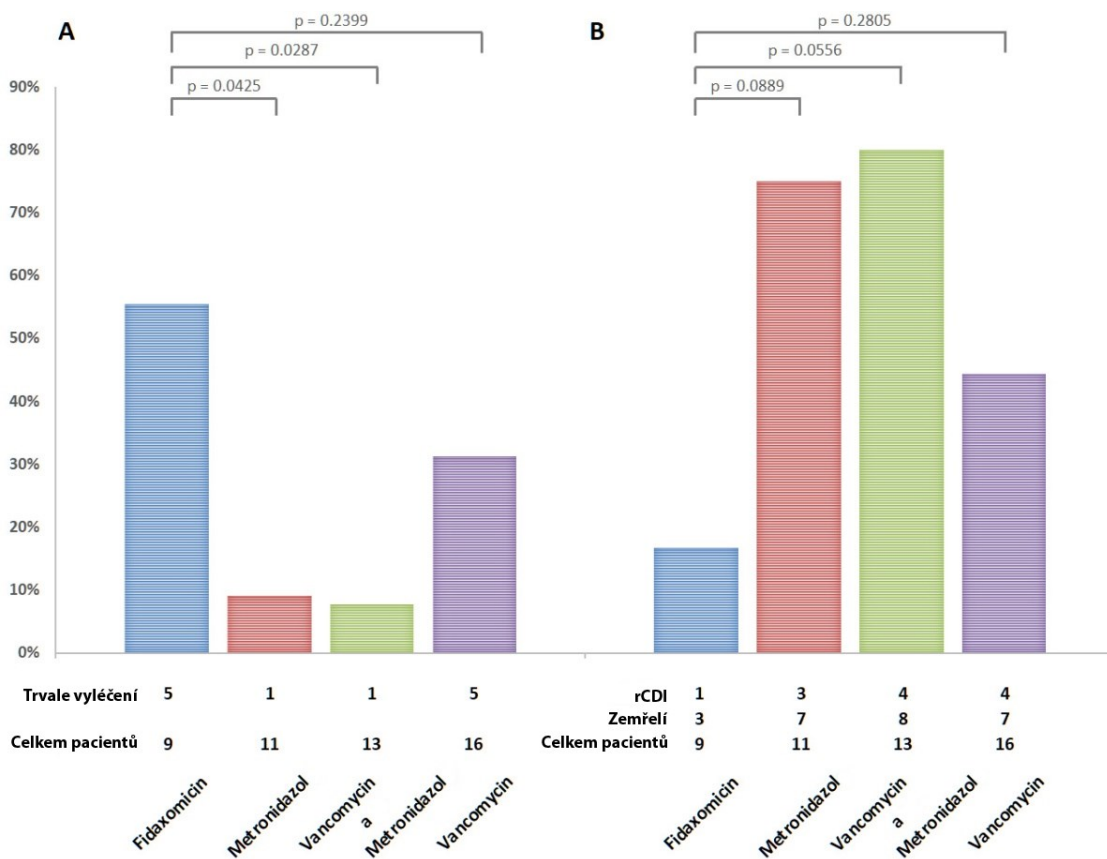
Analyzovaná podskupina zahrnovala 49 pacientů se skóre ATLAS  $\geq 6$ . U dvanácti pacientů v této podskupině se vyvinula rCDI (24,5 %) a 25 pacientů zemřelo (51,0 %).

V dvourozměrné analýze pro trvalé vyléčení pacientů byl fidaxomicin účinnější než metronidazol (5/9, 55,6 % vs. 1/11, 9,1 %, OR 12,5, 95 % CI 1,1, 143,4;  $p = 0,0425$ ) a než kombinace metronidazolu a vankomycinu (5/9, 55,6 % vs. 1/13, 7,7 %; OR 15, 95 % CI 1,3, 169,9;  $p = 0,0287$ ). U pacientů s těžkou CDI léčených fidaxomicinem nebo vankomycinem nebyl zjištěn žádný rozdíl ve výsledcích (tabulka č. 5, graf č. 7).



Pro prevenci další rekurence CDI nebyl mezi léčebnými skupinami zjištěn statisticky významný rozdíl (tabulka č. 6, graf č. 7).

**Graf. č. 7:** Závažná infekce vyvolaná *Clostridioides difficile* (CDI):  
A: trvalá klinická odpověď, B: recidiva CDI.



## 6. Diskuze metodických postupů a výsledků

V úvodní fázi studie, jejímž cílem bylo zjistit incidenci CDI, popsat převažující ribotypy a jejich vztah k průběhu onemocnění, bylo laboratorně potvrzeno celkem 111 případů CDI. Třicet devět vzorků stolice (35 %) bylo při iniciálním vyšetření negativních na přítomnost toxinů A/B a produkce toxinů u *C. difficile* musela být potvrzena doplňkovým vyšetřením, tj. toxigenní kultivací. Námi pozorovanou nižší

citlivost rychlého testu na průkaz toxinů A/B (65 %), uvádí také Eastwood et al. (59,6 %), což zdůrazňuje potřebu použití vícestupňového algoritmu v diagnostice CDI [43, 98].

V souboru 111 izolátů *C. difficile* jsme identifikovali osmnáct různých ribotypů. PCR ribotyp 176 byl nejčastěji zachyceným ribotypem (57,7 %). Výskyt PCR ribotypu 176 v České republice a Polsku byl zaznamenán v roce 2009 [99]. Zatímco v Polsku se PCR-ribotyp 176 vyskytuje společně s PCR-ribotypem 027 [100], v České republice jsou infekce vyvolané PCR-ribotypem 027 vzácné [101]. Spektrum ostatních PCR-ribotypů zjištěných v naší studii odpovídá spektru nejčastějších PCR-ribotypů z evropského průzkumu provedeného v roce 2008 [102].

Citlivost izolátů *C. difficile* k antibiotikům *in vitro* nebyla v této studii testována, ale u izolátů PCR ribotypu 176, který byl dominantní v naší studii, byla nedávno popsána rezistence k řadě antibiotik [103, 104, 105].

V naší studii byla provedena pouze detekce již popsáných mechanismů rezistence, podle kterých můžeme predikovat rezistenční fenotyp. Nejčastějším mechanismem detekovaným v naší studii byla aminokyselinová substituce Thr82Ile v Gyr A, která byla nalezena u 64,9 % izolátů, z nichž 57,7 % tvořily izoláty PCR-ribotypu 176 (všechny ve studii). Tato substituce Thr82Ile v Gyr A odpovídá kodonu 83 u *E. coli* a byla několikrát popsána u izolátů rezistentních k moxifloxacinu [106, 107], temaxifloxacinu a ciprofloxacinu [105, 108], stejně jako k dalším chinolonům: gatifloxacinu, levofloxacinu [109] a mofloxacinu [110]. Fluorochinolony byly v naší studii druhými nejčastěji užívanými antibiotiky před rozvojem CDI. Je zajímavé, že ve skupině pacientů infikovaných PCR-ribotypem 176, byla tato antibiotika užívána až 2,7krát častěji. Zdá se tedy, že podávání chinolonů v našich podmínkách může mít vliv na šíření právě tohoto ribotypu.

Vysoký počet klonálních klastrů ( $n = 11$ ) naznačuje možnost šíření *C. difficile* PCR-ribotypu mezi pacienty stejného zařízení nebo jeho přenos překladem pacientů z jiných zdravotnických zařízení. Úzká genetická příbuznost mezi jednotlivými izoláty PCR-ribotypu 176 a současná vysoká prevalence PCR-ribotypu 176 v nemocnicích České republiky naznačuje, že tento typ je dlouhodobě perzistujícím ribotypem v našich zdravotnických zařízeních [101].

Tři aminokyselinové záměny v RpoB, identifikované v této studii, byly již dříve pozorovány u kmenů *C. difficile* rezistentních k rifampicinu a jeho derivátům [105, 106, 111, 112]. Nosičství těchto aminokyselinových záměn bylo pozorováno především u izolátů PCR-ribotypu 176 [64]. Zajímavé je, že výskyt těchto konkrétních aminokyselinových záměn odpovídá klonálním komplexům identifikovaným pomocí MLVA (CC3 = Asp492Glu + Arg505Lys; izoláty v CC5, CC8 a izolát 126 byly divoké typy).

Incidence CDI během naší dvanáctiměsíční studie byla 31,7 případů na 10 000 ošetrovacích dnů a 215 případů na 10 000 hospitalizací. Na našem pracovišti bylo provedeno 174 testů na CDI na 10 000 hospitalizačních dnů a 1 199 testů na 10 000 hospitalizací, tento výsledek byl pětkrát vyšší než údaje uvedené v evropské studii z let 2012-2013 [113]. Důvodem vysoké incidence CDI a s tím spojené častější provádění testů na CDI na našem pracovišti jsou překlady pacientů s akutním průjmem vzniklým v průběhu hospitalizace z jiných oddělení naší nemocnice a nutnost jejich izolace, a dále příjem pacientů s komplikovaným či recidivujícím průběhem CDI z jiných nemocnic na naše infekční pracoviště z důvodu poskytnutí specializované péče.

Výskyt závažné CDI se v našem souboru lišil v závislosti od použitých definičních kritérií pro těžký průběh onemocnění (ESCMID kritéria 37,8 % vs.

ATLAS score 14,4 %). Závažnost průběhu onemocnění ovlivňuje výběr antibiotika pro terapii onemocnění. Na problém v heterogenitě definicí těžké CDI v jednotlivých doporučených postupech a tím nejednoznačně stanovená kritéria pro výběr terapeutika bylo poukázáno i jinými autory [137, 138].

Rekurence CDI u pacientů v naší studii byla 26,1 %, což je více, než uváděná průměrná prevalence rekurence CDI v Evropě (18 %) [102] a prevalence rekurence pozorovaná ve studiích provedených ve východní Evropě, která činí 11,3-16,4 % [114, 115, 116]. Vyšší procento rekurence v naší studii mohlo být ovlivněno kumulací pacientů s komplikovanou, či již rekurentní formou CDI na našem pracovišti z výše uvedených důvodů.

Výše letality v naší studii (21,6 %) je podobná průměrné evropské mortalitě (22 %) a vyšší než ve studii Balihara et al. (19,7 %), [102, 115]. Třicetidenní mortalita (14,2 %) byla v naší studii nižší než mortalita pozorovaná Kurtim et al. (21,9 %) [114].

PCR-ribotyp 176, nejčastější v naší studii, je blízce příbuzný s PCR-ribotypem 027 [117, 118], přičemž ribotyp 027 je spojen s epidemickým šířením v nemocničních zařízeních [94] a se zvýšenou závažností probíhajících infekcí [119]. Údajů o klinickém významu PCR-ribotypu 176 je poměrně málo. Ve skupině pacientů s CDI vyvolanou ribotypem 176 v porovnání se skupinou pacientů, u kterých byla CDI vyvolaná jiným ribotypem, byla v našem souboru pacientů pozorována vyšší míra výskytu závažné CDI (26,1 % vs. 11,3 %), onemocnění častěji recidivovalo (18,9 % vs. 7,2 %) a současně byla vyšší letality (14,4 % vs. 7,2 %). To podporuje již dříve naznačený klinický význam PCR-ribotypu 176 [100, 120]. V naší studii pacienti infikovaní PCR-ribotypem 176 měli vyšší průměrný věk, stejně jako skupina pacientů s infekcí PCR-ribotypem 027 [119].

V navazující části studie byla porovnávána účinnost čtyř režimů antibiotické léčby u pacientů s CDI. Pacienti zařazení do sledování v jednotlivých léčebných ramenech byli vyvázeni z hlediska demografického (věk a pohlaví) a indexu komorbidit dle Charlsonové. Jednotlivé léčebné režimy byly u pacientů indikovány podle doporučení platných v době přijetí pacienta na oddělení.

První léčebná doporučení, vydaná Evropskou společností pro klinickou mikrobiologii a infekční nemoci (ESCMID), uváděla metronidazol jako lék první volby u nezávažné CDI a u závažného a/nebo recidivujícího průběhu onemocnění byla doporučena kombinace metronidazolu a vankomycinu [47]. V aktualizovaných pokynech ESCMID z roku 2014 [35] si perorální metronidazol udržel pozici antibiotika první volby u nezávažné CDI (první epizoda), vankomycin byl doporučen jako lék první volby u těžké, komplikované nebo rekurentní CDI a fidaxomicin byl zaveden jako alternativní lék k metronidazolu i vankomycinu. Došlo zde k odklonu od původně běžně zavedené dvojkombinační terapie (metronidazol + vankomycin) závažných forem CDI a jejímu nahrazení monoterapií vankomycinem nebo fidaxomicinem. České národní doporučení léčby CDI [51] přijalo tuto aktualizaci, a proto bylo v průběhu studie možné sledovat pacienty ve čtyřech různých antibiotických režimech. Z výše popsaného důvodu je v souboru relativně méně pacientů léčených kombinací metronidazolu a vankomycinu a současně méně pacientů léčených metronidazolem pro rCDI. Fidaxomicin byl novým léčivem v terapii CDI a v České republice je dostupný od roku 2013. Pro jeho vysoké pořizovací náklady byl do klinické praxe zaváděn pozvolna, i přesto se nám v našich podmínkách povedlo vytvořit poměrně robustní skupinu pacientů léčených tímto antibiotikem tak, abychom mohli srovnávat jednotlivé antibiotické režimy.

Dle našich výsledků je fidaxomicin účinnější v porovnání s metronidazolem nebo vankomycinem při léčbě CDI v celkové populaci pacientů a při analýze podskupin též při počáteční epizodě, první recidivě a nezávažné CDI. V několika studiích byla zaznamenána vyšší míra trvalého vyléčení ve srovnání s vankomycinem nebo metronidazolem [121, 122]. Rozdíly ve výsledcích léčby nebyly pozorovány mezi evropskou, americkou a kanadskou populací pacientů [123]. Podobné pozitivní léčebné výsledky u fidaxomicinu uváděla i metaanalýza účinnosti léčby u pacientů s méně četnými recidivami CDI [124].

Vznik rekurence po cílené léčbě byl v naší studii druhým sledovaným ukazatelem léčebné účinnosti jednotlivých antibiotických terapeutik. Fidaxomicin se jevil jako účinnější než metronidazol nebo vankomycin v prevenci rCDI v celé populaci vyšetřovaných, u pacientů s počáteční epizodou, pacientů s první rCDI a u nezávažné CDI. Ve studiích [123, 125, 126] bylo pozorováno podobné snížení míry rekurence u pacientů léčených fidaxomicinem ve srovnání se skupinou léčenou vankomycinem. Vyšší účinnost fidaxomicinu byla zjištěna i v pracích, popisujících zkušenosti z běžné klinické praxe [127, 128]. Lepší účinek fidaxomicinu ve srovnání s vankomycinem v prevenci druhé recidivy (35,5 % vs. 19,7 %) byl prokázán ve studii 128 pacientů [129]. Nicméně u pacientů s opakovanými (tj. vícečetnými) recidivami CDI jsme nezjistili žádný rozdíl mezi klinickým efektem a použitou léčbou. Nedávno publikované práce prokázaly vyšší účinnost fekální bakterioterapie (FMT) v prevenci dalších rekurencí oproti antibiotické léčbě fidaxomicinem i vankomycinem ve skupině 64 pacientů, náhodně rozdělených do tří různých léčebných skupin [66].

U těžkých průběhů CDI byla pozorována vyšší míra trvalého vyléčení po fidaxomicinu než po léčbě metronidazolem nebo jeho kombinací

s vankomycinem. Ve skupině pacientů léčených vankomycinem v monoterapii nebyl pozorován statisticky významný rozdíl ( $p = 0,24$ ), což je v souladu se zjištěními v malé studii pacientů s těžkou CDI s 30denním sledováním [130]. Robustnější data ze dvou dobře srovnatelných kohort ukázala statisticky nevýznamný rozdíl mezi pacienty s těžkým průběhem CDI léčených fidaxomicinem 68/213 (31,9 %) a vankomycinem 163/639 (25,5 %) v 90denním období sledování,  $p = 0,071$  [131]. Doporučené postupy z roku 2018 uvádějí, že k léčbě těžké CDI lze použít buď fidaxomicin nebo vankomycin [132]. Závěry výše uvedených prací a výsledky získané z naší studie poukazují na to, že dosud nemáme k dispozici dostatečně účinné antibiotikum pro léčbu pacientů s těžkou CDI. U pacientů s těžkým průběhem CDI neměla žádná z doporučených antibiotických léčebných metod statisticky významné výsledky v prevenci rozvoje další rCDI. Podobně tomu bylo i mezi fidaxomicinem a perorálním vankomycinem (24,4 % pro obě antibiotika  $p = 1,00$ ) při 90denním sledování [131].

Navzdory vyšší pořizovací ceně fidaxomicinu byla prokázána jeho nákladová efektivita ve srovnání s léky první linie vankomycinem nebo metronidazolem v několika studiích, kde jeho použití vedlo k menšímu počtu rehospitalizací [133, 134, 135, 136]. V naší studii byla u velké skupiny pacientů zjištěna vyšší míra rCDI (29,2 %), což představuje ekonomickou zátěž pro systém zdravotní péče. Skupina pacientů léčených fidaxomicinem měla významně nižší míru rCDI ve srovnání se skupinami léčenými metronidazolem a vankomycinem (12 % vs. 35 %, 38 %). Zavedení fidaxomicinu do terapie tedy může mít dlouhodobý ekonomický efekt, jak bylo prokázáno již dříve [133, 134, 135, 136].

Tato studie byla koncipována jako studie pacientů z jednoho centra a jejich počet v jednotlivých léčebných skupinách nebyl příliš velký. Klinika infekčních nemocí je

však specializovaným centrem pro léčbu CDI. Kromě izolace a léčby pacientů s CDI z celé Fakultní nemocnice Bulovka přijímá pacienty s touto diagnózou i z jiných nemocnic a poskytuje jim specializovaný léčebný přístup. Soubor pacientů ve studii tak zastupuje populaci přesahující spádovou oblast nemocnice. Výsledky celkové populační analýzy mohly být ovlivněny stratifikací pacientů do jednotlivých léčebných skupin na základě doporučených postupů, platných v době hospitalizace pacienta. Dále mohly být výsledky naší studie ovlivněny endemickým výskytem *C. difficile* PCR ribotypu 176, který je příbuzný ribotypu 027. Avšak podávání specifické léčby CDI není závislé na genotypu vyvolávajícího kmene *C. difficile*. Během studie byly všechny izoláty *C. difficile* citlivé k metronidazolu a vankomycinu. Citlivost k fidaxomicinu nebyla stanovena, protože komerční test nebyl a stále není k dispozici.

## **7. Závěr a zhodnocení cílů**

Předkládaná práce analyzuje epidemiologické a klinické charakteristiky pacientů s CDI a na základě korelace získaných PCR-ribotyp s léčebnými výsledky poukazuje na možný vliv PCR-ribotypů na závažnost průběhu onemocnění. Nejčastějším ribotypem v naší studii byl RT 176, který byl dosud ojedinele hlášen ve střední Evropě a jeho význam dosud nebyl jasně popsán. V naší studii u infekcí vyvolaných RT 176 byla pozorována vyšší míra závažného průběhu CDI, recidiv a letality. Vysoký výskyt RT 176 v našich podmínkách a zjištěná klonální příbuznost mezi jednotlivými izoláty naznačují jeho schopnost úspěšně se šířit v nemocničním prostředí. Z tohoto důvodu je důležité dodržování preventivních opatření v nemocnicích k zamezení jeho šíření a pravidelná surveillance na lokální i národní úrovni pro monitoraci dalšího vývoje. Přítomnost aminokyselinové substituce



Thr82Ile v GyrA, která je spojena s rezistencí k fluorochinolonům u všech izolátů RT 176 ve studii, poukazuje na vhodnost redukce spotřeby chinolonových antibiotik, a tím snížení selekčního tlaku na šíření tohoto ribotypu.

Ze zhodnocení účinnosti různých antibiotických režimů léčby CDI vyplynulo, že z hlediska trvalé klinické odpovědi a prevence recidivy je fidaxomicin účinnější než metronidazol nebo vankomycin, a to v léčbě jak celého souboru pacientů, tak v podskupinách pacientů s počáteční epizodou, s první recidivou a s nezávažnou formou CDI. Při perorální léčbě těžké CDI měl fidaxomicin podobnou účinnost jako vankomycin a žádné z antibiotik nebylo lepší v prevenci rCDI. U mnohočetné rCDI měly fidaxomicin, vankomycin nebo kombinace metronidazolu a vankomycinu podobný efekt na trvalou klinickou odpověď a prevenci rCDI.

Pro zlepšení účinnosti léčby u skupin pacientů s těžkou CDI a mnohočetnou rCDI budou zapotřebí další studie.

## 8. Souhrn

**Úvod:** Klostridiová kolitida (CDI) představuje nejčastější nozokomiální střevní infekci, je asociována s užíváním antibiotik a v důsledku šíření epidemických kmenů *Clostridioides difficile* dochází ke změnám v průběhu a závažnosti onemocnění. Cílem práce bylo popsat charakteristiky pacientů s prokázanou CDI, u získaných izolátů provést molekulární analýzu a následně korelovat klinický průběh a léčebné výsledky se zachycenými ribotypy. Dále byla hodnocena účinnost antibiotických režimů v léčbě CDI v závislosti na závažnosti a pořadí ataky onemocnění.

**Metody:** Observační kohortová studie byla provedena v letech 2013-2016 na Klinice infekčních nemocí, Fakultní Nemocnice Bulovka v Praze. Do studie byli zařazeni pacienti s prokázanou CDI. Závažnost CDI byla hodnocena pomocí kritérií ESCMID a skórování ATLAS. Izoláty *C. difficile* byly charakterizovány pomocí ribotypizace, multilokusové analýzy tandemových repetice (MLVA) a vyšetřením přítomnosti determinant rezistence k antibiotikům (mutace v genech *gyrA*, *gyrB*, *rpoB* a přítomnost *ermB*). K vyhodnocení účinnosti antibiotických režimů (metronidazol, vankomycin, kombinace vankomycinu a metronidazolu, fidaxomicin) byla použita jednorozměrná logistická regrese. Byly provedeny analýzy podskupin na základě počtu a závažnosti epizod CDI.

**Výsledky:** Celkem bylo charakterizováno 111 izolátů *C. difficile*, z nichž 64 (58 %) patřilo k PCR-ribotypu 176. Analýza MLVA izolátů PCR-ribotypu 176 odhalila 11 klonálních komplexů. Závažná CDI podle kritérií ESCMID byla zaznamenána u 42 pacientů (37,8 %) a 16 pacientů (14,4 %) mělo skóre ATLAS  $\geq 6$ . Recidivující CDI mělo 26,1 % pacientů, zemřelo jich 21,6 %. V celém souboru nemocných byl fidaxomicin účinnější než metronidazol, vankomycin nebo jejich kombinace, pokud jde o trvalou klinickou odpověď a prevenci rekurentní CDI (rCDI). V analýzách podskupin vykazoval fidaxomicin lepší výsledky, pokud jde o trvalou klinickou odpověď a prevenci rCDI u počáteční epizody, první recidivy a v případě nezávažných průběhů. Při léčbě závažné CDI měl fidaxomicin srovnatelné výsledky léčby jako vankomycin a žádné z antibiotik v tomto případě nebylo lepší v prevenci rCDI.

**Závěr:** Ribotyp 176 byl nejčastějším původcem CDI, způsoboval závažnější průběh onemocnění, častější recidivy a vyšší pravděpodobnost úmrtí. Poukazujeme na riziko jeho nozokomiálního šíření. Při léčbě pacientů s počáteční epizodou, první recidivou a nezávažnou CDI byl fidaxomicin účinnější než metronidazol nebo vankomycin.

## Summary

**Introduction:** *Clostridioides difficile* infection (CDI) is the most common nosocomial gastrointestinal infection, it is associated with antibiotic use and due to the spread of epidemic strains of *C. difficile*, there are differences in the course and severity of the disease. This study aimed to describe the characteristics of patients with CDI, to perform molecular analysis of isolates, and then to correlate CDI course and treatment outcomes with the causative ribotypes. Furthermore, the efficacy of antibiotic regimens in the treatment of CDI was evaluated with the severity and number of CDI episodes.

**Methods:** The observational cohort study was conducted in 2013-2016 at the Department of Infectious Diseases of the Bulovka University Hospital in Prague. Patients with laboratory-confirmed CDI were included in the study. *C. difficile* isolates were characterized by ribotyping, multiple variable tandem repeat analysis (MLVA) and examination of antibiotic resistance determinants (mutations in *gyrA*, *gyrB*, *rpoB* genes or the presence of *ermB*). Univariate logistic regression was used to evaluate the efficacy of antibiotic regimens (metronidazole, vancomycin, combination of vancomycin and metronidazole, fidaxomicin). Subgroup analyses were performed based on the number and severity of CDI episodes.

**Results:** A total of 111 *C. difficile* isolates were characterized, of which 64 (58%) belonged to PCR-ribotype 176. MLVA analysis of PCR-ribotype 176 isolates revealed 11 clonal complexes. Severe CDI according to ESCMID criteria was observed in 42 patients (37.8%) and 16 patients (14.4%) had an ATLAS score  $\geq 6$ . 26.1% of patients had recurrent CDI and 21.6% died. In the overall study group, fidaxomicin was more effective than metronidazole, vancomycin or their combination in terms of sustained clinical response and prevention of recurrent CDI (rCDI). In subgroup analyses, fidaxomicin was superior in terms of sustained clinical response and prevention of rCDI for initial episode, first recurrence, and non-severe cases. In the treatment of severe CDI, fidaxomicin had comparable treatment outcomes to vancomycin, and none of the antibiotics was superior in preventing rCDI.

**Conclusion:** Ribotype 176 was the most common causative agent of CDI, causing a more severe disease course, more frequent relapses and higher mortality. We point out the risk of its nosocomial spread. Fidaxomicin was more effective than metronidazole or vancomycin in treating patients with the initial episode, first relapse and non-severe CDI.

## 9. Seznam zkratek

ATLAS	skórovací systém (Age, Treatment with antibiotics, Leukocyte count, Albumin, Serum creatinine)
CA-CDI	Community-acquired <i>Clostridioides difficile</i> infection
CC	Clonal complex
CDI	<i>Clostridioides difficile</i> infection
rCDI	reccurent CDI
sCDI	severe CDI
ECDIS-net	European Clostridium difficile infection surveillance network
EIA	Enzyme immunoassay
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
EPIDAT	Epidemiologická databáze infekcí
ESCMID	European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases
FDX	Fidaxomicin
FMT	Faecal microbiota transplantation
GDH	Glutamátdehydrogenáza
GIT	Gastrointestinal tract
HA-CDI	Hospital-acquired <i>Clostridium difficile</i> infections
NCBI	National Center for Biotechnology Information
MLSB	rezistence k antibiotikům ze skupiny makrolidů, linkosamidů a streptograminu B
MLVA	Multiple Locus Variable-number Tandem Repeat Analysis
MTZ	Metronidazol

MST	Minimum spanning tree
NAAT	Nucleic acids amplification test
NAP1	North American pulsed-field gel electrophoresis type 1
NCBI	National Center for Biotechnology Information
PCR	Polymerase chain reaction
RT	Ribotype
STRD	Sum of tandem-repeats differences
SZÚ	Státní zdravotní ústav
UA-CDI	Unknown-associated <i>Clostridium difficile</i> infections
VAN	Vankomycin
VNTR	Variable number tandem repeats
VRE	Vancomycin-resistant enterococci

## 10. Literatura

- [1] Hall, IC, O'Toole E. Intestinal Flora in New-born Infants: with a description of a new pathogenic anaerobe, Bacillus Difficilis. *Am J Dis Child*. 1935;49(2):390–402. doi:[10.1001/archpedi.1935.01970020105010](https://doi.org/10.1001/archpedi.1935.01970020105010).
- [2] Bartlett JG, Moon N, Chang TW, Taylor N, Onderdonk AB. Role of Clostridium difficile in antibiotic-associated pseudomembranous colitis. *Gastroenterology*. 1978;75(5):778-782. doi: [10.1016/0016-5085\(78\)90457-2](https://doi.org/10.1016/0016-5085(78)90457-2).
- [3] Freeman J, Bauer MP, Baines SD, Corver J, Fawley WN, et al. The changing epidemiology of Clostridium difficile infections. *Clin Microbiol Rev*. 2010;23(3):529-549. doi: [10.1128/CMR.00082-09](https://doi.org/10.1128/CMR.00082-09). PMID: 20610822; PMCID: PMC2901659.
- [4] He M, Miyajima F, Roberts P, Ellison L, Pickard DJ, et al. Emergence and global spread of epidemic healthcare-associated Clostridium difficile. *Nat Genet*. 2013;45(1):109-113. doi: [10.1038/ng.2478](https://doi.org/10.1038/ng.2478). Epub 2012 Dec 9. PMID: 23222960; PMCID: PMC3605770.
- [5] Miller M, Gravel D, Mulvey M, Taylor G, Boyd D, et al. Health care-associated Clostridium difficile infection in Canada: patient age and infecting strain type are highly predictive of severe outcome and mortality. *Clin Infect Dis*. 2010;50(2):194-201. doi: [10.1086/649213](https://doi.org/10.1086/649213).
- [6] Stebel R, Vojtilová L, Husa P. Aktuality v léčbě a prevenci klostridiové kolitidy. *Vnitř Lék*. 2020; 66(E-2): 24–28.
- [7] 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):10.2807/1560-7917.ES.2016.21.29.30296.
- [8] Krutova M, Nyc O, Matejkova J, Allerberger F, Wilcox MH, et al. Molecular characterisation of Czech Clostridium difficile isolates collected in 2013-2015. *Int J Med Microbiol*. 2016;306(7):479-485.
- [9] Krutova M, Matejkova J, Drevinek P, Kuijper EJ, Nyc O; study group. Increasing incidence of Clostridium difficile ribotype 001 associated with severe course of the infection and previous fluoroquinolone use in the Czech Republic, 2015. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2017 Nov;36(11):2251-2258.

- [10] Weber DJ, Anderson DJ, Sexton DJ, Rutala WA. Role of the environment in the transmission of *Clostridium difficile* in health care facilities. *Am J Infect Control*. 2013;41(5 Suppl):S105-S110.
- [11] Warriner K, Xu C, Habash M, Sultan S, Weese SJ. Dissemination of *Clostridium difficile* in food and the environment: Significant sources of *C. difficile* community-acquired infection? *J Appl Microbiol*. 2017;122(3):542-553.
- [12] 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.
- [13] Schäffler H, Breitrück A. *Clostridium difficile* - From Colonization to Infection. *Front Microbiol*. 2018;9:646.
- [14] Gupta A, Khanna S. Community-acquired *Clostridium difficile* infection: an increasing public health threat. *Infect Drug Resist*. 2014;7:63-72. Published 2014 Mar 17.
- [15] Khanna S, Pardi DS, Aronson SL, Kammer PP, Orenstein R, et al. The epidemiology of community-acquired *Clostridium difficile* infection: a population-based study [published correction appears in *Am J Gastroenterol*. 2012 Jan;107(1):150]. *Am J Gastroenterol*. 2012;107(1):89-95.
- [16] Reigadas E, Vázquez-Cuesta S, Villar-Gómara L, Onori R, Alcalá L, et al. Role of *Clostridioides difficile* in hospital environment and healthcare workers. *Anaerobe*. 2020 Jun;63:102204. doi: 10.1016/j.anaerobe.2020.102204. Epub 2020 Apr 24. PMID: 32335312.
- [17] Gupta A, Khanna S. Community-acquired *Clostridium difficile* infection: an increasing public health threat. *Infect Drug Resist*. 2014 Mar 17;7:63-72. doi: 10.2147/IDR.S46780. PMID: 24669194; PMCID: PMC3962320.
- [18] Baktash A, Terveer EM, Zwitter RD, Hornung BVH, Corver J, et al. Mechanistic Insights in the Success of Fecal Microbiota Transplants for the Treatment of *Clostridium difficile* Infections. *Front Microbiol*. 2018;9:1242. doi: [10.3389/fmicb.2018.01242](https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01242).
- [19] Bacci S, Mølbak K, Kjeldsen MK, Olsen KE. Binary toxin and death after *Clostridium difficile* infection. *Emerg Infect Dis*. 2011;17(6):976-982
- [20] Cowardin CA, Buonomo EL, Saleh MM, Wilson MG, Burgess SL, et al. The binary toxin CDT enhances *Clostridium difficile* virulence by suppressing protective colonic eosinophilia. *Nat Microbiol*. 2016 Jul 11;1(8):16108. doi: [10.1038/nmicrobiol.2016.108](https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.108). PMID: 27573114; PMCID: PMC5010011.

- [21] Eze P, Balsells E, Kyaw MH, Nair H. Risk factors for *Clostridium difficile* infections - an overview of the evidence base and challenges in data synthesis. *J Glob Health*. 2017 Jun;7(1):010417. doi: 10.7189/jogh.07.010417. PMID: 28607673; PMCID: PMC5460399.
- [22] Brown KA, Khanafer N, Daneman N, Fisman DN. Meta-analysis of antibiotics and the risk of community-associated *Clostridium difficile* infection. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013 May;57(5):2326-32. doi: 10.1128/AAC.02176-12. Epub 2013 Mar 11. PMID: 23478961; PMCID: PMC3632900.
- [23] Teng C, Reveles KR, Obodozie-Ofoegbu OO, Frei CR. *Clostridium difficile* Infection Risk with Important Antibiotic Classes: An Analysis of the FDA Adverse Event Reporting System. *Int J Med Sci*. 2019 May 7;16(5):630-635. doi: 10.7150/ijms.30739. PMID: 31217729; PMCID: PMC6566741.
- [24] Miller AC, Arakkal AT, Sewell DK, Segre AM, Tholany J, et al. CDC MInD-Healthcare Group. Comparison of Different Antibiotics and the Risk for Community-Associated *Clostridioides difficile* Infection: A Case-Control Study. *Open Forum Infect Dis*. 2023 Aug 5;10(8):ofad413. doi: 10.1093/ofid/ofad413. PMID: 37622034; PMCID: PMC10444966.
- [25] Hensgens MP, Goorhuis A, Dekkers OM, Kuijper EJ. Time interval of increased risk for *Clostridium difficile* infection after exposure to antibiotics. *J Antimicrob Chemother*. 2012;67(3):742-748.
- [26] Palleja A, Mikkelsen KH, Forslund SK, Kashani A, Allin KH, et al. Recovery of gut microbiota of healthy adults following antibiotic exposure. *Nat Microbiol*. 2018; 3(11): 1255-1265. doi: [10.1038/s41564-018-0257-9](https://doi.org/10.1038/s41564-018-0257-9). Epub 2018 Oct 22. PMID: 30349083.
- [27] Loo VG, Bourgault AM, Poirier L, Lamothe F, Sophie Michaud MD, et al. Host and Pathogen Factors for *Clostridium difficile* Infection and Colonization. *N Engl J Med*. 2011;365(18):1693-703. doi: [10.1056/NEJMoa1012413](https://doi.org/10.1056/NEJMoa1012413). PMID: 22047560.
- [28] Olsen MA, Stwalley D, Demont C, Dubberke ER. Increasing Age Has Limited Impact on Risk of *Clostridium difficile* Infection in an Elderly Population. *Open Forum Infect Dis*. 2018;5(7):ofy 160. doi: [10.1093/ofid/ofy160](https://doi.org/10.1093/ofid/ofy160). PMID: 30046643; PMCID: PMC6054265.
- [29] Khanna S, Pardi DS, Aronson SL, Kammer PP, Orenstein R, et al. The epidemiology of community-acquired *Clostridium difficile* infection: a population-based study [published correction appears in *Am J Gastroenterol*. 2012



- Jan;107(1):150]. *Am J Gastroenterol.* 2012;107(1):89-95. doi: [10.1038/ajg.2011.398](https://doi.org/10.1038/ajg.2011.398).
- [30] Hassan M, Tuckman HP, Patrick RH, Kountz DS, Kohn JL, et al. Hospital length of stay and probability of acquiring infection. *Int J Pharmaceut Healthcare Market.* 2010; (4): 324-328. doi: [10.1108/17506121011095182](https://doi.org/10.1108/17506121011095182).
- [31] Furuya-Kanamori L, Marquess J, Yakob L, Riley TV, Paterson DL, et al. Asymptomatic *Clostridium difficile* colonization: epidemiology and clinical implications. *BMC Infect Dis.* 2015 Nov 14;15:516. doi: [10.1186/s12879-015-1258-4](https://doi.org/10.1186/s12879-015-1258-4)
- [32] 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(3):561-567.
- [33] Bartlett JG, Gerding DN. Clinical recognition and diagnosis of *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis.* 2008 Jan 15;46 Suppl 1:S12-8. doi: 10.1086/521863. PMID: 18177217.
- [34] Sayedy L, Kothari D, Richards RJ. Toxic megacolon associated *Clostridium difficile* colitis. *World J Gastrointest Endosc.* 2010 Aug 16;2(8):293-7. doi: 10.4253/wjge.v2.i8.293. PMID: 21160629; PMCID: PMC2999149.
- [35] Debast SB, Bauer MP, Kuijper EJ. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the treatment guidance document for *Clostridium difficile* infection. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20(2):1-26.
- [36] Miller MA, Louie T, Mullane K, Weiss K, Lentnek A, et al. Derivation and validation of a simple clinical bedside score (ATLAS) for *Clostridium difficile* infection which predicts response to therapy. *BMC Infect Dis.* 2013; 13:148. doi: DOI: [10.1186/1471-2334-13-148](https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-148)
- [37] Hernández-García R, Garza-González E, Miller M, Arteaga-Muller G, Galván-de los Santos AM, et al. Application of the ATLAS score for evaluating the severity of *Clostridium difficile* infection in teaching hospitals in Mexico. *Braz J Infect Dis.* 2015 Jul-Aug;19(4):399-402. doi: [10.1016/j.bjid.2015.05.005](https://doi.org/10.1016/j.bjid.2015.05.005). Epub 2015 Jun 25. PMID: 26117213; PMCID: PMC9427479.
- [38] Adams SD, Mercer DW. Fulminant *Clostridium difficile* colitis. *Curr Opin Crit Care.* 2007;13(4):450-455.

- [39] Kazanowski M, Smolarek S, Kinnarney F, Grzebieniak Z. Clostridium difficile: epidemiology, diagnostic and therapeutic possibilities-a systematic review. *Tech Coloproctol*. 2014;18(3):223-32. doi: [10.1007/s10151-013-1081-0](https://doi.org/10.1007/s10151-013-1081-0).
- [40] Song JH, Kim YS. Recurrent *Clostridium difficile* Infection: Risk Factors, Treatment, and Prevention. *Gut Liver*. 2019;13(1):16-24.
- [41] van Prehn J, Reigadas E, Vogelzang EH, Bouza E, Hristea A, et al. Guideline Committee of the European Study Group on Clostridioides difficile. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: 2021 update on the treatment guidance document for Clostridioides difficile infection in adults. *Clin Microbiol Infect*. 2021 Dec;27 Suppl 2:S1-S21. doi: 10.1016/j.cmi.2021.09.038. Epub 2021 Oct 20. PMID: 34678515.
- [42] Beneš J, Stebel R, Musil V, Krůtová M, Vejmelka J, et al. Aktualizovaný doporučený postup pro léčbu nemocných s kolitidou vyvolanou *Clostridioides difficile*. Doporučený postup Společnosti infekčního lékařství ČLS JEP, vydán 20. 9.2022. Dostupné z: <https://www.infektologie.cz/zprava22-39.htm>
- [43] Crobach MJ, Planche T, Eckert C, Barbut F, Terveer EM, et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the diagnostic guidance document for Clostridium difficile infection. *Clin Microbiol Infect*. 2016 Aug;22 Suppl 4:S63-81. doi: 10.1016/j.cmi.2016.03.010. Epub 2016 Jul 25. PMID: 27460910.
- [44] Bartlett JG, Gerding DN, Clinical Recognition and Diagnosis of *Clostridium difficile* Infection, *Clinical Infectious Diseases*, Volume 46, Issue Supplement\_1, January 2008, Pages S12–S18, <https://doi.org/10.1086/521863>.
- [45] Farooq PD, Urrunaga NH, Tang DM, von Rosenvinge EC. Pseudomembranous colitis, *Disease-a-Month*, 2015;61(5):181-206. doi: [10.1016/j.disamonth.2015.01.006](https://doi.org/10.1016/j.disamonth.2015.01.006).
- [46] Kawamoto S, Horton KM, Fishman EK. Pseudomembranous colitis: spectrum of imaging findings with clinical and pathologic correlation. *Radiographics*. 1999; 19:887–97
- [47] Bauer MP, Kuijper EJ, van Dissel JT. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): treatment guidance document for Clostridium difficile infection (CDI). *Clin Microbiol Infect*. 2009 Dec;15(12):1067-79. doi: 10.1111/j.1469-0691.2009.03099.x. PMID: 19929973.

- [48] McDonald LC, Gerding DN, Johnson S, Bakken JS, Carroll KC, 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 Mar 19;66(7):e1-e48. doi:[10.1093/cid/cix1085](https://doi.org/10.1093/cid/cix1085). PMID: 29462280; PMCID: PMC6018983.
- [49] Ooijevaar RE, van Beurden YH, Terveer EM, Goorhuis A, Bauer MP, et al. Update of treatment algorithms for Clostridium difficile infection. *Clin Microbiol Infect*. 2018 May;24(5):452-462. doi:10.1016/j.cmi.2017.12.022. Epub 2018 Jan 6. PMID: 29309934.
- [50] Beneš J, Husa P, Nyč O. Recommendations for diagnosis and therapy of colitis caused by *Clostridium difficile*. *Klin Mikrobiol Infekcni Lek*. 2012;18:160–167.
- [51] Beneš J, Husa P, Nyč O, Polívková S. Doporučený postup diagnostiky a léčby kolitidy vyvolané Clostridium difficile. *Klin Mikrobiol Inf Léč*. 2014; 20(2): 56–66.
- [52] Johnson S, Louie TJ, Gerding DN, Cornely OA, Chasan-Taber S, et al. Polymer Alternative for CDI Treatment (PACT) investigators. Vancomycin, metronidazole, or tolevamer for Clostridium difficile infection: results from two multinational, randomized, controlled trials. *Clin Infect Dis*. 2014 Aug 1;59(3):345-54. doi: 10.1093/cid/ciu313. Epub 2014 May 5. PMID: 24799326.
- [53] Venugopal AA, Johnson S. Fidaxomicin: a novel macrocyclic antibiotic approved for treatment of Clostridium difficile infection. *Clin Infect Dis*. 2012 Feb 15;54(4):568-74. doi: 10.1093/cid/cir830. Epub 2011 Dec 7. PMID: 22156854.
- [54] Artsimovitch I, Seddon J, Sears P. Fidaxomicin is an inhibitor of the initiation of bacterial RNA synthesis. *Clin Infect Dis*. 2012 Aug;55 Suppl 2(Suppl 2):S127-31. doi: 10.1093/cid/cis358. PMID: 22752861; PMCID: PMC3388026.
- [55] Louie TJ, Miller MA, Mullane KM, Weiss K, Lentnek A, et al. OPT-80-003 Clinical Study Group. Fidaxomicin versus vancomycin for Clostridium difficile infection. *N Engl J Med*. 2011 Feb 3;364(5):422-31. doi: 10.1056/NEJMoa0910812. PMID: 21288078.
- [56] Cornely OA, Crook DW, Esposito R, Poirier A, Somero MS, et al. OPT-80-004 Clinical Study Group. 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 Apr;12(4):281-9. doi: 10.1016/S1473-3099(11)70374-7. Epub 2012 Feb 8. PMID: 22321770.

- [57] Weiss K, Allgren RL, Sellers S. Safety Analysis of Fidaxomicin in Comparison With Oral Vancomycin for *Clostridium difficile* Infections, *Clinical Infectious Diseases*, 2012; 55(2):S110–S115, <https://doi.org/10.1093/cid/cis390>
- [58] Mikamo H, Tateda K, Yanagihara K, Kusachi S, Takesue Y, et al. Efficacy and safety of fidaxomicin for the treatment of Clostridioides (Clostridium) difficile infection in a randomized, double-blind, comparative Phase III study in Japan. *J Infect Chemother*. 2018 Sep;24(9):744-752. doi: 10.1016/j.jiac.2018.05.010. Epub 2018 Jun 19. PMID: 29934056.
- [59] Nelson RL, Suda KJ, Evans CT. Antibiotic treatment for Clostridium difficile-associated diarrhoea in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017 Mar 3;3(3):CD004610. doi: 10.1002/14651858.CD004610.pub5. PMID: 28257555; PMCID: PMC6464548.
- [60] Beneš J, Polívková S. Antibiotická léčba klostridiové kolitidy. *Epidemiol Mikrobiol Imunol*. 2016; 65(1):15-24.
- [61] Krutova M, Wilcox M, Kuijper E. Clostridioides difficile infection: are the three currently used antibiotic treatment options equal from pharmacological and microbiological points of view? *Int J Infect Dis*. 2022 Nov;124:118-123. doi: 10.1016/j.ijid.2022.09.013. Epub 2022 Sep 22. PMID: 36155825.
- [62] Sirbu BD, Soriano MM, Manzo C, Lum J, Gerding DN, et al. Vancomycin Taper and Pulse Regimen With Careful Follow-up for Patients With Recurrent Clostridium difficile Infection. *Clin Infect Dis*. 2017 Oct 15;65(8):1396-1399. doi: 10.1093/cid/cix529. PMID: 28591789.
- [63] Louie TJ, Cannon K, Byrne B, Emery J, Ward L, et al. Fidaxomicin preserves the intestinal microbiome during and after treatment of Clostridium difficile infection (CDI) and reduces both toxin reexpression and recurrence of CDI. *Clin Infect Dis*. 2012 Aug;55 Suppl 2(Suppl 2):S132-42. doi: 10.1093/cid/cis338. PMID: 22752862; PMCID: PMC3388020.
- [64] Louie TJ, Miller MA, Mullane KM, Weiss K, Lentnek A, et al. OPT-80-003 Clinical Study Group. Fidaxomicin versus vancomycin for Clostridium difficile infection. *N Engl J Med*. 2011 Feb 3;364(5):422-31. doi: 10.1056/NEJMoa0910812. PMID: 21288078.
- [65] Al Momani LA, Abughanimeh O, Boonpheng B, Gabriel JG, Young M, et al. Fidaxomicin vs vancomycin for the treatment of a first episode of *Clostridium*

- difficile* infection: a meta-analysis and systematic review. *Cureus*. 2018; 10(6): e2778.
- [66] Hvas CL, Dahl Jørgensen SM, Jørgensen SP, Storgaard M, Lemming L, et al. Fecal Microbiota Transplantation Is Superior to Fidaxomicin for Treatment of Recurrent *Clostridium difficile* Infection. *Gastroenterology*. 2019 Apr;156(5):1324-1332.e3. doi: 10.1053/j.gastro.2018.12.019. Epub 2019 Jan 2. PMID: 30610862.
- [67] Freeman J, Vernon J, Morris K, Nicholson S, Todhunter S, et al. Pan-European longitudinal surveillance of antibiotic resistance among prevalent *Clostridium difficile* ribotypes. *Clin Microbiol Infect*. 2015;21(3):248.e9–16.
- [68] Bishop EJ, Tiruvoipati R, Metcalfe J, Marshall C, Botha J, et al. The outcome of patients with severe and severe-complicated *Clostridium difficile* infection treated with tigecycline combination therapy: a retrospective observational study. *Intern Med J*. 2018;48(6):651–660.
- [69] 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.
- [70] Gergely Szabo B, Kadar B, Szidonia Lenart K, Dezsényi B, Kunovski P, et al. Use of intravenous tigecycline in patients with severe *Clostridium difficile* infection: a retrospective observational cohort study. *Clin Microbiol Infect*. 2016;22(12):990-5.
- [71] Navalkele BD, Lerner SA. Intravenous tigecycline facilitates cure of severe *Clostridium difficile* infection (CDI) after failure of standard therapy: a case report and literature review of tigecycline use in CDI. *Open Forum Infect Dis*. 2016; 3(2):ofw094.
- [72] van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, Fuentes S, Zoetendal EG, et al. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med*. 2013;368(5):407-415.
- [73] Cammarota G, Masucci L, Ianiro G, Bibbo S, Dinoi G, et al. Randomised clinical trial: faecal microbiota transplantation by colonoscopy vs. vancomycin for the treatment of recurrent *Clostridium difficile* infection. *Aliment Pharmacol Ther*. 2015;41(9):835-843.
- [74] Hota SS, Sales V, Tomlinson G, Salpeter MJ, McGee A, et al. Oral Vancomycin Followed by Fecal Transplantation Versus Tapering Oral Vancomycin Treatment

- for Recurrent *Clostridium difficile* Infection: An Open-Label, Randomized Controlled Trial. *Clin Infect Dis*. 2017;64(3):265-271.
- [75] Cammarota G, Ianiro G, Tilg H, Rajilić-Stojanović M, Kump P, et al. European FMT Working Group. European consensus conference on faecal microbiota transplantation in clinical practice. *Gut*. 2017 Apr;66(4):569-580. doi: 10.1136/gutjnl-2016-313017. Epub 2017 Jan 13. PMID: 28087657; PMCID: PMC5529972.
- [76] Polívková S, Vojtilová L, Husa P, Beneš J. Doporučený postup fekální bakterioterapie pro léčbu rekurentní klostridiové kolitidy. *Klin Mikrobiol Infekc Lek*. 2018;24(2):57-64.
- [77] Wilcox MH, Gerding DN, Poxton IR, et al. Bezlotoxumab for Prevention of Recurrent *Clostridium difficile* Infection. *N Engl J Med*. 2017;376(4):305-317.
- [78] Allen SJ, Wareham K, Wang D, Bradley C, Hutchings H, et al. Lactobacilli and bifidobacteria in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea and *Clostridium difficile* diarrhoea in older inpatients (PLACIDE): a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial. *Lancet*. 2013 Oct 12;382(9900):1249-57. doi: 10.1016/S0140-6736(13)61218-0. Epub 2013 Aug 8. PMID: 23932219.
- [79] Wombwell E, Patterson ME, Bransteitter B, Gillen LR. The Effect of *Saccharomyces boulardii* Primary Prevention on Risk of Hospital-onset *Clostridioides difficile* Infection in Hospitalized Patients Administered Antibiotics Frequently Associated With *C. difficile* Infection. *Clin Infect Dis*. 2021 Nov 2;73(9):e2512-e2518. doi: 10.1093/cid/ciaa808. PMID: 32575126.
- [80] Suez J, Zmora N, Zilberman-Schapira G, Mor U, Dori-Bachash M, et al. Post-Antibiotic Gut Mucosal Microbiome Reconstitution Is Impaired by Probiotics and Improved by Autologous FMT. *Cell*. 2018 Sep 6;174(6):1406-1423.e16. doi: 10.1016/j.cell.2018.08.047. PMID: 30193113.
- [81] Vonberg RP, Kuijper EJ, Wilcox MH, et al. Infection control measures to limit the spread of *Clostridium difficile*. *Clin Microbiol Infect*. 2008;14 Suppl 5:2-20.
- [82] Boyce JM, Havill NL, Otter JA, et al. Impact of hydrogen peroxide vapor room decontamination on *Clostridium difficile* environmental contamination and transmission in a healthcare setting. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2008;29(8):723-729.
- [83] Dubberke ER, Carling P, Carrico R, Donskey CJ, Loo VG, et al. Strategies to prevent *Clostridium difficile* infections in acute care hospitals: 2014 Update. *Infect*

- Control Hosp Epidemiol.* 2014;35(6):628-45. doi: [10.1086/676023](https://doi.org/10.1086/676023). PMID: 24799639.
- [84] Stubbs SL, Brazier JS, O'Neill GL, Duerden BI. PCR targeted to the 16S-23S rRNA gene intergenic spacer region of *Clostridium difficile* and construction of a library consisting of 116 different PCR ribotypes, *J. Clin. Microbiol.* 37 (2) (1999) 461-463.
- [85] Indra A, Huhulescu S, Schneeweis M, Hasenberger P, Kernbichler S, et al. Characterization of *Clostridium difficile* isolates using capillary gel electrophoresis-based PCR ribotyping, *J. Med. Microbiol.* 57 (Pt 11) (2008) 1377-1382.
- [86] Persson S, Torpdahl M, Olsen KE. New multiplex PCR method for the detection of *Clostridium difficile* toxin A (tcdA) and toxin B (tcdB) and the binary toxin (cdtA/cdtB) genes applied to a Danish strain collection, *Clin. Microbiol. Infect.* 14 (11) (2008) 1057e1064. Erratum in: *Clin Microbiol Infect.* 2009; 15 (3); 296.
- [87] Dridi L, Tankovic J, Burghoffer B, Barbut F, Petit JC, gyrA and gyrB mutations are implicated in cross-resistance to Ciprofloxacin and moxifloxacin in *Clostridium Difficile*, *Antimicrob. Agents Chemother.* 46 (11) (2002) 3418-3421.
- [88] Curry SR, Marsh JW, Shutt KA, Muto CA, O'Leary MM, et al. High frequency of rifampin resistance identified in an epidemic *Clostridium difficile* clone from a large teaching hospital, *Clin. Infect. Dis.* 48 (4) (2009) 425-429.
- [89] Spigaglia P, Mastrantonio P. Comparative analysis of *Clostridium difficile* clinical isolates belonging to different genetic lineages and time periods, *J. Med. Microbiol.* 53 (Pt 11) (2004) 1129-1136.
- [90] van den Berg RJ, Schaap I, Templeton KE, Klaassen CH, Kuijper EJ. Typing and subtyping of *Clostridium difficile* isolates by using multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis, *J. Clin. Microbiol.* 45 (3) (2007) 1024-1028.
- [91] Marsh JW, O'Leary MM, Shutt KA, Pasculle AW, Johnson S, et al. Multilocus variable-number tandem-repeat analysis for investigation of *Clostridium difficile* transmission in Hospitals, *J. Clin. Microbiol.* 44 (7) (2006) 2558-2566.
- [92] Goorhuis A, Legaria MC, van den Berg RJ, Harmanus C, Klaassen CH, et al. Application of multiple-locus variable-number tandemrepeat analysis to determine clonal spread of toxin A-negative *Clostridium difficile* in a general hospital in Buenos Aires, Argentina, *Clin. Microbiol. Infect.* 15 (12) (2009) 1080-1086.

- [93] European Centre for Disease Prevention and Control, European Surveillance of Clostridium difficile Infections. Surveillance Protocol Version 2.1, ECDC, Stockholm, 2015.
- [94] 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.* 12 (6) (2006) 2-18. Review.
- [95] Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, Kelly CP, Loo VG, et al. Clinical practice guidelines for Clostridium difficile infection in adults: 2010 update by the society for healthcare epidemiology of America (SHEA) and the infectious diseases society of America (IDSA), *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 31 (5) (2010) 431-455.
- [96] Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis.* 1987;40(5):373-83. doi: [10.1016/0021-9681\(87\)90171-8](https://doi.org/10.1016/0021-9681(87)90171-8). PMID: 3558716.
- [97] R Core Team. R: a language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2018. [www.R-project.org](http://www.R-project.org).
- [98] Eastwood K, Else P, Charlett A, Wilcox M. Comparison of nine commercially available Clostridium difficile toxin detection assays, a real-time PCR assay for C. difficile tcdB, and a glutamate dehydrogenase detection assay to cytotoxin testing and cytotoxigenic culture methods, *J. Clin. Microbiol.* 47 (10) (2009) 3211-3217.
- [99] Nyc O, Pituch H, Matejkova J, Obuch-Woszczatynski P, Kuijper EJ. Clostridium difficile PCR ribotype 176 in the Czech Republic and Poland, *Lancet.* 377 (9775) (2011) 1407.
- [100] Obuch-Woszczatynski P, Lachowicz D., Schneider A, Mol A, Pawłowska J, et al. Occurrence of Clostridium difficile PCR-ribotype 027 and it's closely related PCR-ribotype 176 in hospitals in Poland in 2008-2010, *Anaerobe.* 28 (2014) 13-17.
- [101] Krutova M, Nyc O, Kuijper EJ, Geigerova L, Matejkova J, et al. A case of imported Clostridium difficile PCR-ribotype 027 infection within the Czech Republic which has a high prevalence of C. difficile ribotype 176, *Anaerobe.* 30 (2014) 153-155.
- [102] Bauer MP, Notermans DW, van Benthem HB, Brazier JS, Wilcox MH, et al. Clostridium difficile infection in Europe: a hospital-based survey, *Lancet.* 377 (9759) (2011) 63-73.



- [103]Freeman J, Vernon J, Morris K, Nicholson S, Todhunter S, et al. Pan-European longitudinal surveillance of antibiotic resistance among prevalent *Clostridium difficile* ribotypes, *Clin. Microbiol. Infect.* 21 (3) (2015) 248 e9-248.e16.
- [104]Lachowicz D, Pituch H, Obuch-Woszczatynski P. Antimicrobial susceptibility patterns of *Clostridium difficile* strains belonging to different polymerase chain reaction ribotypes isolated in Poland in 2012, *Anaerobe.* 31 (2015) 37-41.
- [105]Krutova M, Matejkova J, Tkadlec J, Nyc O. Antibiotic profiling of *Clostridium difficile* ribotype 176-A multidrug resistant relative to *C. difficile* ribotype 027, Aug 6, *Anaerobe.* S1075e9964 (15) (2015) 30045e30047.
- [106]Spigaglia P, Barbanti F, Mastrantonio P. European Study Group on *Clostridium difficile* (ESGCD). Multidrug resistance in European *Clostridium difficile* clinical isolates, *J. Antimicrob. Chemother.* 66 (10) (2011) 2227-2234.
- [107]Ackermann G, Tang YJ, Kueper R, Heisig P, Rodloff AC, et al. Resistance to moxifloxacin in toxigenic *Clostridium difficile* isolates is associated with mutations in *gyrA*, *Antimicrob. Agents Chemother.* 45 (8) (2001) 2348-2353.
- [108]Dridi L, Tankovic J, Burghoffer B, Barbut F, Petit JC. *gyrA* and *gyrB* mutations are implicated in cross-resistance to Ciprofloxacin and moxifloxacin in *Clostridium difficile*, *Antimicrob. Agents Chemother.* 46 (11) (2002) 3418-3421.
- [109]Spigaglia P., Barbanti F, Mastrantonio P, Brazier JS, Barbut F, et al. Fluoroquinolone resistance in *Clostridium difficile* isolates from a prospective study of *C. difficile* infections in Europe, *J. Med. Microbiol.* 57 (6) (2008) 784-789.
- [110]Drudy D, Kyne L, O'Mahony R, Fanning S. *gyrA* mutations in fluoroquinolone-resistant *Clostridium difficile* PCR-027, *Emerg. Infect. Dis.* 13 (3) (2007) 504-505.
- [111]O'Connor JR, Galang MA, Sambol SP, Hecht DW, Vedantam G, et al. Rifampin and rifaximin resistance in clinical isolates of *Clostridium difficile*, *Antimicrob. Agents Chemother.* 52 (8) (2008) 2813-2817.
- [112]Curry SR, Marsh JW, Shutt KA, Muto CA, O'Leary MM, et al. High frequency of rifampin resistance identified in an epidemic *Clostridium difficile* clone from a large teaching hospital, *Clin. Infect. Dis.* 48 (4) (2009) 425-429.
- [113]Davies KA, Longshaw CM, Davis GL, Bouza E, Barbut F, et al. Underdiagnosis of *Clostridium difficile* across Europe: the European, multicentre, prospective, biannual, point-prevalence study of *Clostridium difficile* infection in hospitalised patients with diarrhoea (EUCLID). *Lancet Infect Dis.* 2014 Dec;14(12):1208-19. doi: [10.1016/S1473-3099\(14\)70991-0](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70991-0). Epub 2014 Nov 7. PMID: 25455988.

- [114]Kurti Z, Lovasz BD, Mandel MD, Csima Z, Golovics PA, et al. Burden of Clostridium difficile infection between 2010 and 2013: trends and outcomes from an academic center in Eastern Europe, *World J. Gastroenterol.* 21 (21) (2015) 6728-6735.
- [115]Balihar K, Kozak F, Kozeluhova J, Hejda V, Fremundova L, et al. Clostridium difficile infection in hospitalized patients at a Czech tertiary center: analysis of epidemiology, clinical features, and risk factors of fulminant course, *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 26 (8) (2014) 880-887.
- [116]Novak A, Spigaglia P, Barbanti F, Goic-Barisic I, Tonkic M. First clinical and microbiological characterization of Clostridium difficile infection in a Croatian University Hospital, *Anaerobe.* 30 (2014) 18-23.
- [117]Valiente E, Dawson LF, Cairns MD, Stabler RA, Wren BW. Emergence of new PCR ribotypes from the hypervirulent Clostridium difficile 027 lineage, *J. Med. Microbiol.* 61 (Pt 1) (2012) 49-56.
- [118]He M, Miyajima F, Roberts P, Ellison L, Pickard DJ, et al. Emergence and global spread of epidemic healthcare-associated Clostridium difficile, *Nat. Genet.* 45 (1) (2013) 109-113.
- [119]Rao K, Micic D, Natarajan M, Winters S, Kiel MJ, et al. Clostridium difficile ribotype 027: relationship to age, detectability of toxins A or B in stool with rapid testing, severe infection, and mortality, *Clin. Infect. Dis.* 61 (2) (2015) 233-241.
- [120]Drabek J, Nyc O, Krutova M, Stovicek J, Matejkova J, et al. Clinical features and characteristics of Clostridium difficile PCR-ribotype 176 infection: results from a 1-year university hospital internal ward study. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2015 Dec 23;14:55. doi: [10.1186/s12941-015-0114-0](https://doi.org/10.1186/s12941-015-0114-0). PMID: 26698842; PMCID: PMC4690340.
- [121]Cornely OA, Nathwani D, Ivanescu C, Odufowora-Sita O, Retsa P, et al. Clinical efficacy of fidaxomicin compared with vancomycin and metronidazole in Clostridium difficile infections: a meta-analysis and indirect treatment comparison. *J Antimicrob Chemother.* 2014;69:2892–900, doi: [10.1093/jac/dku261](https://doi.org/10.1093/jac/dku261).
- [122]Okumura H, Fukushima A, Taieb V, Shoji S, English M. Fidaxomicin compared with vancomycin and metronidazole for the treatment of Clostridioides (Clostridium) difficile infection: a network meta-analysis. *J Infect Chemother* 2020;26:43–50, doi: [10.1016/j.jiac.2019.07.005](https://doi.org/10.1016/j.jiac.2019.07.005).

- [123]Cornely OA, Crook DW, Esposito R, Poirier A, Somero MS, 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*. 2012a;12:281–9.
- [124]Beinortas T, Burr NE, Wilcox MH, Subramanian V. Comparative efficacy of treatments for *Clostridium difficile* infection: a systematic review and network meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2018;18:1035–44, doi: [10.1016/S1473-3099\(18\)30285-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30285-8).
- [125]Weiss K, Allgren RL, Sellers S. Safety analysis of fidaxomicin in comparison with oral vancomycin for *Clostridium difficile* infections. *Clin Infect Dis*. 2012;55:S110–5, doi: [10.1093/cid/cis390](https://doi.org/10.1093/cid/cis390).
- [126]Mikamo H, Tateda K, Yanagihara K, Kusachi S, Takesue Y, et al. Efficacy and safety of fidaxomicin for the treatment of *Clostridioides (Clostridium) difficile* infection in a randomized, double-blind, comparative Phase III study in Japan. *J Infect Chemother*. 2018;24:744–52, doi: [10.1016/j.jiac.2018.05.010](https://doi.org/10.1016/j.jiac.2018.05.010).
- [127]Gallagher JC, Reilly JP, Navalkele B, Downham G, Haynes K, et al. Clinical and economic benefits of fidaxomicin compared to vancomycin for *Clostridium difficile* infection. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59:7007–10, doi: [10.1128/AAC.00939-15](https://doi.org/10.1128/AAC.00939-15).
- [128]Goldenberg SD, Brown S, Edwards L, Gnanarajah D, Howard P, et al. The impact of the introduction of fidaxomicin on the management of *Clostridium difficile* infection in seven NHS secondary care hospitals in England: a series of local service evaluations. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2016;35:251–9, doi: [10.1007/s10096-015-2538-z](https://doi.org/10.1007/s10096-015-2538-z).
- [129]Cornely OA, Miller MA, Louie TJ, Crook DW, Gorbach SL. Treatment of first recurrence of *Clostridium difficile* infection: fidaxomicin versus vancomycin. *Clin Infect Dis*. 2012b;55: S154–61.
- [130]Biggs M, Iqbal T, Holden E, Clewer V, Garvey MI. Effect of using fidaxomicin on recurrent *Clostridium difficile* infection. *J Hosp Infect* 2019;102:165–7, doi: [10.1016/j.jhin.2018.12.018](https://doi.org/10.1016/j.jhin.2018.12.018).
- [131]Gentry CA, Nguyen PK, Thind S, Kurdgelashvili G, Skrepnek GH, et al. Fidaxomicin versus oral vancomycin for severe *Clostridium difficile* infection: a retrospective cohort study. *Clin Microbiol Infect*. 2019;25:987–93, doi: [10.1016/j.cmi.2018.12.007](https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.12.007).

- [132] McDonald LC, Gerding DN, Johnson S, Bakken JS, Carroll KC, 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;66:987–94, doi: [10.1093/cid/ciy149](https://doi.org/10.1093/cid/ciy149).
- [133] Reveles KR, Backo JL, Corvino FA, Zivkovic M, Broderick KC. Fidaxomicin versus vancomycin as a first-line treatment for *Clostridium difficile*-associated diarrhea in specific patient populations: a pharmacoeconomic evaluation. *Pharmaco-therapy*. 2017;37:1489–97, doi: [10.1002/phar.2049](https://doi.org/10.1002/phar.2049).
- [134] Watt M, Dinh A, Le Monnier A, Tilleul P. Cost-effectiveness analysis on the use of fidaxomicin and vancomycin to treat *Clostridium difficile* infection in France. *J Med Econ*. 2017;20:678–86, doi: [10.1080/13696998.2017.1302946](https://doi.org/10.1080/13696998.2017.1302946).
- [135] Burton HE, Mitchell SA, Watt M. A systematic literature review of economic evaluations of antibiotic treatments for *Clostridium difficile* infection. *Pharmacoeconomics*. 2017;35:1123–40, doi: [10.1007/s40273-017-0540-2](https://doi.org/10.1007/s40273-017-0540-2).
- [136] Heimann SM, Cruz Aguilar MR, Mellinshof S, Vehreschild MJGT. Economic burden and cost-effective management of *Clostridium difficile* infections. *Med Mal Infect*. 2018;48:23–9, doi: [10.1016/j.medmal.2017.10.010](https://doi.org/10.1016/j.medmal.2017.10.010).
- [137] Khanafer N, Barbut F, Eckert C, Perraud M, Demont C, et al. Factors predictive of severe *Clostridium difficile* infection depend on the definition used. *Anaerobe*. 2016 Feb;37:43-8. doi: 10.1016/j.anaerobe.2015.08.002. Epub 2015 Sep 1. PMID: 26335160.
- [138] Zhang VRY, Woo ASJ, Scaduto C, Cruz MTK, Tan YY, et al. Systematic review on the definition and predictors of severe *Clostridiodes difficile* infection. *J Gastroenterol Hepatol*. 2021 Jan;36(1):89-104. doi: 10.1111/jgh.15102. Epub 2020 Jun 26. PMID: 32424877.