

# Prisotnost različnih genotipov bakterije *Clostridium difficile* pri hospitaliziranih bolnikih v Sloveniji med dvomesečnim zimskim obdobjem

Diversity of *C. difficile* PCR ribotypes isolated from hospitalised patients in Slovenia during two-winter-month period

Maja Rupnik,<sup>1,2,3</sup> Sara Beigot Glaser,<sup>1</sup> Alenka Andlovic,<sup>4</sup> Ingrid Berce,<sup>5</sup> Tjaša Čretnik,<sup>6</sup> Bojan Drinovec,<sup>7</sup> Tatjana Harlander,<sup>8</sup> Nadja Orešič,<sup>1</sup> Mateja Ravnik,<sup>9</sup> Iztok Štrumbelj<sup>10</sup>

<sup>1</sup> Zavod za zdravstveno varstvo Maribor, Prvomajska 1, 2000 Maribor

<sup>2</sup> Univerza v Mariboru, Medicinska fakulteta, Slomškovo trg 15, 2000 Maribor

<sup>3</sup> Center odličnosti Cipkebip, Jamova 39, 1000 Ljubljana

<sup>4</sup> Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Zaloška 4, 1000 Ljubljana

<sup>5</sup> Zavod za zdravstveno varstvo Nova Gorica, Vipavska cesta 13, Rožna Dolina 5000 Nova Gorica

<sup>6</sup> Zavod za zdravstveno varstvo Celje, Ipavčeva 18, 3000 Celje

<sup>7</sup> Zavod za zdravstveno varstvo Koper, Vojkovo nabrežje 4a, 6000 Koper

<sup>8</sup> Zavod za zdravstveno varstvo Novo mesto, Mej vrti 5, 8000 Novo mesto

<sup>9</sup> Zavod za zdravstveno varstvo Kranj, Gosposvetska ulica 12, 4000 Kranj

<sup>10</sup> Zavod za zdravstveno varstvo Murska Sobota, Arhitekta Novaka 2b, 9000 Murska Sobota

## Izvedek

**Izhodišča:** *Clostridium difficile* je trenutno v svetu med najpomembnejšimi povzročitelji bolnišničnih črevesnih okužb. Seve lahko nadalje razlikujemo z ribotipizacijo. Nekateri ribotipi (npr. 027) so v številnih evropskih državah povezani z obširnimi izbruhi, povišano obolevnostjo in povišano smrtnostjo. V tem prispevku opisujemo razširjenost različnih ribotipov na območju celotne Slovenije.

**Metode:** Seve bakterije *C. difficile*, ki so jih osamili v vseh osmih laboratorijih, kjer v Sloveniji diagnosticirajo bakterijo *C. difficile*, smo ribotipizirali. Prav tako smo zbrali podatke o skupnem številu opravljenih preiskav na *C. difficile* ter demografske podatke (starost in spol bolnikov).

**Rezultati:** V dvomesečnem zimskem obdobju je bilo v Sloveniji testiranih skupaj 860 vzorcev, od teh je bilo pozitivnih 154 (17,9 %) vzorcev pri 125 bolnikih. Odstotek pozitivnih vzorcev v posameznem laboratoriju se je gibal od 13,3 do 43,2 %. Dva od osmih laboratorijev (oba iz primorsko-obalne regije) v času študije nista imela pozitivnih vzorcev. Tipiziranih je bilo 149 sevov. Uvrstili smo jih v 35 ribotipov, vendar je bilo več kot polovica sevov (57,7 %) v samo dveh ribotipih, 027 in 014/020. Ribotip 027 v Sloveniji do leta 2010 ni bil zaznan, v tej študiji je bil najpogostejši ribotip, prevladoval pa je v severovzhodni regiji.

**Zaključki:** Raznolikost sevov *C. difficile* v Sloveniji je velika. Prevladovanje ribotipa 027 in visok odstotek pozitivnih vzorcev v nekaterih regijah kažejo na možnost izbruhov okužbe.

## Abstract

**Background:** *Clostridium difficile* is an important cause of nosocomial diarrhoea. Strains are further differentiated into PCR ribotypes, and some ribotypes (e.g. 027) are often associated with outbreaks, increased disease severity and increased mortality. Here we describe the diversity of *C. difficile* among human isolates in Slovenia.

**Methods:** All eight microbiological diagnostic laboratories providing *C. difficile* diagnostics in Slovenia have participated. Isolates from two-month-winter period were collected and ribotyped. The following data were also collected from the laboratories: number of all tested samples, number of all positive samples, and patient age and gender.

**Results:** In a two-month period, altogether 860 samples were tested for *C. difficile* in all participating laboratories. Of those, 154 (17.9 %) samples from 125 patients were positive. The percentage of positive samples in different laboratories ranged from 13.3 to 43.2 %. Two out of eight laboratories did not have positive samples. *C. difficile* strains (n=149) were grouped into 35 ribotypes. However, 57.7 % of all strains belonged only to two PCR ribotypes (027 and 014/020). PCR ribotype 027 was not present in Slovenia until 2010, but was in this study the most prevalent PCR ribotype and present mainly in the northeast region.

**Conclusions:** There is a substantial diversity of *C. difficile* ribotypes in Slovenia. A high prevalence of ribotype 027 and a high percentage of positive samples in some laboratories indicate the presence of *C. difficile* outbreaks.

**Korespondenca/  
Correspondence:**

prof. dr. Maja Rupnik  
NLZOH Maribor,  
Prvomajska 1, 2000  
Maribor  
email: maja.rupnik@  
zzv-mb.si

**Ključne besede:**

*Clostridium  
difficile*, bolnišnične  
okužbe, ribotip  
O27, mikrobiološka  
diagnostika

**Key words:**

*Clostridium difficile*,  
nosocomial infections,  
ribotype O27,  
microbiology diagnostics

**Citirajte kot/Cite as:**

Zdrav Vestn 2013;  
82: page 739–45

Prispelo: 18. jan. 2013,  
Sprejeto: 2. avg. 2013

**Izhodišča**

*Clostridium difficile* je po Gramu pozitivna, anaerobna, sporogena bakterija, ki povzroča črevesne okužbe, najpogosteje po zdravljenju z antibiotiki, pa tudi po kemoterapiji in po kirurških posegih.<sup>1</sup> Bolezenski znaki so lahko blaga driska, kolitis, psevdomembranozni kolitis ali ileus. Hospitalizirani bolniki, starejši od 65 let, po zdravljenju z antibiotiki so še zmeraj populacija z največjim tveganjem. Vendar se okužba vse pogosteje pojavlja tudi pri ambulantno zdravljениh bolnikih, ki so imeli stik z zdravstveno ustanovo ali celo brez dokumentiranega zdravljenja v bolnišnici.<sup>2</sup> Prav tako se okužba vse pogosteje pojavlja pri ljudeh, ki jih doslej nismo smatrali za tipično populacijo, npr. mlajši ljudje, občasno nosečnice, otroci ter bolniki s kronično vnetno črevesno boleznijo.<sup>3-5</sup>

Bakterijo *C. difficile* lahko razdelimo v različnimi tipizacijskimi metodami, med katerimi postaja PCR ribotipizacija svetovni standard.<sup>6</sup> S to metodo razdelimo seve na več kot 300 znanih ribotipov, ki jih označujemo s števkami (001, 002 ...), osnovna baza referenčnih sevov pa je nameščena v Anarobe Reference Center v Cardiffu. Za običajno izvedbo ribotipizacije potrebujemo sev, opisana pa je tudi izboljšana metoda, ki omogoča tipizacijo neposredno iz kužnine, rezultat pa lahko javimo v 24 do 48 urah.<sup>7</sup> Nekateri od ribotipov so povezani s povišano obolevnostjo in smrtnostjo, npr. ribotipi 027, 078, 017, 053.<sup>8,9</sup> Zato jih včasih imenujemo tudi hipervirulentni ribotipi, čeprav poskušamo ta pojem uporabljati zelo previdno, samim ribotipom pa ne pripisovati tolikšnega pomena.<sup>10</sup>

V zadnjih desetih letih, ki so bila obdobje hitrega širjenja določenih genotipov po vsem svetu ter v splošnem naraščanja števila okužb, so številne države uvedle obvezno javljanje okužb s *C. difficile*. Sistemi obveznega javljanja se med državami razlikujejo. V Sloveniji je *C. difficile* obvezno prijavljiva nalezljiva bolezen v okviru prijav drisk po povzročitelju. Objav, ki opisujejo okužbe s *C. difficile* v Sloveniji, je malo; najboljše sta raziskani ljubljanska in mariborska regija.<sup>11-14</sup> Cilj tukaj opisane raziskave je bil ugo-

toviti število zahtevanih testiranj in število pozitivnih testov ter raznolikost genotipov bakterije *C. difficile* na celotnem področju Slovenije v krajšem obdobju. Raziskava je potekala v dvomesečnem zimskem obdobju, sodelovali pa so vsi laboratoriji, ki mikrobiološko diagnosticirajo bakterije *C. difficile* v Sloveniji.

**Metode****Izbor sevov**

V raziskavi je sodelovalo vseh osem laboratorijev, ki v Sloveniji izvajajo mikrobiološko preiskavo na *C. difficile* (IMI MF UL, ZZV Maribor, ZZV Celje, ZZV Koper, ZZV Kranj, ZZV Murska Sobota, ZZV Nova Gorica, ZZV Novo Mesto). Metode, ki jih ti laboratoriji uporabljajo, so: osamitev povzročitelja v kulturi in določitev toksigene kulture, hitri encimski testi za dokaz antigena glutamat dehidrogenaze (GDH) in toksinov A in B in molekularna metoda odkrivanja gena za toksin A ali toksin B v vzorcu blata (Illumigene ali Cepheid Xpert™ *C. difficile* assay).

Laboratoriji so na ZZV Maribor posredovali vse seve, ki so jih osamili v okviru rutinskega mikrobiološkega testiranja v obdobju med 15. 12. 2011 in 15. 2. 2012. V primeru, da osamitev povzročitelja ni del rutinske mikrobiološke diagnostike in zato laboratorij ni imel na voljo sevov, je poslal vse vzorce blata, pozitivne na *C. difficile* z njihovo rutinsko metodo. Iz prejetih vzorcev blata smo na ZZV Maribor osamili bakterijo *C. difficile* na komercialnem gojišču CLO (bioMerieux) po petdnevni bogatitvi v gojišču CDALT (gojišče CDA (Oxoid) z dodatkom lizocima in tavroholata)<sup>15</sup> in alkoholnem šoku.

Vsak laboratorij je za sev oz. vzorec posredoval starost in spol bolnika, pošiljatelja (npr. bolnišnica 1, 2 ali 3, ambulanta, ...) ter podatke o tem, katere seve so osamili pri istem bolniku. Prav tako je laboratorij posredoval število vseh vzorcev, ki so jih prejeli na testiranje na *C. difficile* v obdobju študije ter število vzorcev pozitivnih na *C. difficile* v tem istem obdobju.

## PCR ribotipizacija sevov *C. difficile*

Identifikacijo sevov *C. difficile* smo potrdili s pomnoževanjem dela gena *cdd3*, ki je značilno prisoten samo v sevih bakterije *C. difficile*.<sup>15</sup>

Sevom smo določili PCR ribotip z metodo ribotipizacije z začetnimi oligonukleotidi kot so jih opisali Bidet in sod. z metodo, ki so jo opisali v Janežič in sod., 2010.<sup>6</sup> Za določanje PCR ribotipa se pomnoži medgenska regija na ribosomalnem operonu. Ker ima en sev v kromosomu večje število ribosomalnih operonov (do 12), ti se med seboj lahko razlikujejo v dolžini medgenske regije, z eno samo reakcijo pomnoževanja dobimo vzorec pomnoženih fragmentov. Posamezen vzorec nato primerjamo s knjižnico referenčnih sevov, ter mu določimo PCR ribotip. Ta se izrazi s trimestno številko, kadar se profil ujema z mednarodnim referenčnim sevom. Ker laboratoriji, ki izvajajo tipizacijo, nimajo vseh mednarodnih referenčnih se-

vov (teh je v Cardiff zbirki več kot 300), PCR ribotipe označujejo tudi s svojimi internimi oznakami. V laboratoriju ZZV Maribor so te interne oznake SLO 001, SLO 002 .... Kadar PCR ribotip združuje dva zelo podobna ribotipa (npr. 014 in 020), ki jih nekateri laboratoriji ne razlikujejo, jih v rezultatih študij običajno podajamo skupaj (014/020).

## Rezultati

V dvomesečnem obdobju študije je bilo v vseh osmih laboratorijih prejetih skupno 860 vzorcev za testiranje na *C. difficile*. Pozitivnih vzorcev je bilo skupaj 154 (17,9 %) (Tabela 1). Število vzorcev prejetih v raziskavo v posameznem laboratoriju je variiralo od 27 do 307, delež pozitivnih vzorcev pa se je gibal od 13,3 do 43,2 % (Tabela 1). Dva laboratorija (ZZV Nova Gorica in ZZV Koper) v obdobju raziskave nista imela pozitivnih vzorcev. Večinoma so bili naročniki bolnišnice, le izjemoma zdravstveni dom oz. am-

**Tabela 1:** Pregled testiranj na bakterijo *C. difficile* ter nekateri demografski podatki bolnikov pri vseh sodelujočih laboratorijih.

	MB	IMI	MS	CE	KR	NM	skupaj
Število vseh vzorcev za preiskavo na <i>C. difficile</i>	248	307	97	73	43	27	860 <sup>a</sup>
Vsi pozitivni vzorci	48 (19,3 %)	41 (13,3 %)	42 (43,2 %)	13 (17,8 %)	6 (13,9 %)	4 (14,8 %)	154 (17,9 %)
Št. različnih ribotipov	18	19	6	8	4	3	35
Starost	<1 do 87	1 do 91	3 do 92	<1 do 90	48 do 92	49 do 86	
Vsi bolniki	37	32	36	13	4	3	125
Vsi bolniki nad 65 let	21 (56,7 %)	19 (59,4 %)	29 (80,5 %)	9 (69,2 %)	3 (75 %)	2 (66,7 %)	83 (66,4 %)
Št. žensk	24 (64,8 %)	15 (46,9 %)	18 (50 %)	7 (53,8 %)	3 (75 %)	3 (100 %)	70 (56 %)
Št. moških	13 (35,2 %)	17 (53,1 %)	18 (50 %)	6 (46,2 %)	1 (25 %)	0	55 (46 %)
Pozitivni vzorci brez seva <sup>b</sup>	-	-	5		-	-	5
2-krat testirani	9	7	4	0	2	1	23
3-krat testirani	1	1	1	0	0	0	3

Uporabljene okrajšave: MB – ZZV Maribor; IMI – Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani, MS – ZZV Murska Sobota; CE – ZZV Celje; KR – ZZV Kranj; NM – ZZV Novo mesto

a – navedeno je število vzorcev, naštetih v tabeli (795), s prištetimi vzorci iz ZZV Nova Gorica (št. preiskav 34, št. pozitivnih 0) in ZZV Koper (št. preiskav 31, št. pozitivnih 0)

b – število vzorcev, pri katerih je bil rezultat testiranja na *C. difficile* v diagnostičnem laboratoriju pozitiven, sev za nadaljnje raziskave v študiji (ribotipizacija) pa ni bil na voljo (v treh primerih je zmanjkalo vzorca blata, v dveh primerih pa iz vzorca blata nismo osamili povzročitelja).

**Tabela 2:** Pregled PCR ribotipov, v katere so bili uvrščeni izolati *C. difficile*.

	Regija A	Regija B	Regija C <sup>a</sup>	SKUPAJ
	MB,MS, CE	LJ,NM,KR	KP, NG	
št. pregledanih vzorcev/št. pozitivnih (%)	418/103 (24,6 %)	377/51 (13,5 %)	65/0	860/154 (17,9 %)
027	50	9		59
014/020	16	11	*	27
150	3	5	*	8
023	3	2		5
011/049(SLO 070)	2	2		4
010 (A-B-)	3			3
012	3		*	3
001	2	1		3
002	2	1		3
SLO 096		3	*	3
001/072 (SLO 006)	2			2
070	1	1		2
SLO 084 (A-B-)	2			2
001/072 (SLO 050)		2		2
056		2		2
SLO 150		2		2
011/049 (SLO 133)	1		*	1
053 (A-B-)	1			1
078	1			1
SLO 057 (A-B-)	1			1
SLO 063	1			1
SLO 064 (A-B-)	1			1
SLO 131 (A-B-)	1			1
SLO 149 (A-B-)	1			1
SLO 156 (A-B-)	1			1
046		1		1
081		1		1
126		1	*	1
SLO 005		1		1
SLO 009		1		1
SLO 053		1		1
SLO 066		1		1
SLO 071		1		1

	Regija A	Regija B	Regija C <sup>a</sup>	SKUPAJ
SLO 114		1		1
SLO 159 (A-B-)		1		1
Vsi izolati	98 <sup>b</sup>	51	0 <sup>a</sup>	149

a – za regijo C v dvomesečnem obdobju študije ni bilo pozitivnih vzorcev; z \* so prikazani ribotipi, ki so jih v tej regiji osamili v letih 2011 in 2012; ribotipi zaznani le v tej regiji, pa so še 005, SLO 036, SLO 069, SLO 065, SLO 169.

b – število ribotipiziranih sevov (98) se razlikuje od števila vzorcev, pozitivnih na *C. difficile* (103), ker za 5 vzorcev ni bilo na voljo seva za tipizacijo.

Ribotipi, v katere so bili uvrščeni netoksinogeni sevi, so označeni z A-B-.

bulanta (3 vzorci) ali dom starejših občanov (1 vzorec), zato članek opisuje predvsem ribotipe pri hospitaliziranih bolnikih.

*C. difficile* je bil potrjen pri 125 bolnikih, starih od <1 do 92 let, vendar so prevladovali bolniki, starejši od 65 let (Tabela 1). Število žensk je bilo nekoliko višje od števila moških. Triindvajset bolnikov je bilo v dvomesečnem obdobju testiranih 2-krat, trije pa celo 3-krat. Glede na pridobljene podatke ne moremo sklepati, ali gre za ponovitve okužbe, ali pa samo za več zaporednih testiranj v okviru ene epizode.

Za pet od 154 vzorcev, pozitivnih na *C. difficile* v rutinski diagnostiki, izolat ni bil na voljo, zato je bilo skupno število tipiziranih sevov 149. Vsi prejeti sevi so bili potrjeni kot *C. difficile*, kar kaže na dobro prakso na področju mikrobiološke diagnostike *C. difficile* v Sloveniji.<sup>16</sup>

Pri pregledu razporeditve genotipov smo osem sodelujočih laboratorijev razporedili v tri regije: A (širša SV regija; ZZV Murska Sobota, ZZV Maribor, ZZV Celje), B (osrednja in JV; IMI MF UL, ZZV Kranj, ZZV Novo mesto) in C (obalno-primorska; ZZV Koper, ZZV Nova Gorica). Seve, izolirane v dvomesečnem zimskem obdobju, smo uvrstili v 35 različnih PCR ribotipov (Preglednica 2). Kljub tej navidezni raznolikosti pa prevladujeta dva PCR ribotipa (o14/o20 in o27), med katera smo uvrstili več kot polovico vseh sevov (57,7 %). Devet PCR ribotipov je imelo od 3 do 9 izolatov. Kar štiriindvajset PCR ribotipov pa je vključevalo samo enega ali dva predstavnika.

## Razpravljanje

Število publikacij o okužbi z bakterijo *C. difficile* v Sloveniji je skromno.<sup>11-14</sup> Prav tako v teh študijah niso navedeni podatki o genotipizaciji (PCR ribotipi) sevov. V edini publikaciji, ki navaja raznolikost *C. difficile* ribotipov v Sloveniji, gre za primerjavo sevov, ki so jih osamili iz ljudi, živali in nebolnišničnega okolja.<sup>17</sup> Humani izolati, vključeni v publikacijo, so večinoma iz UKC Ljubljana in UKC Maribor ter izolirani v daljšem obdobju (med letoma 2008 in 2010). Tu opisana študija je tako prvo poročilo za celotno območje Slovenije o številu testiranj na *C. difficile*, deležu pozitivnih testov ter o tipih in njihovi porazdelitvi v različnih slovenskih regijah.

Populacija bolnikov, pri katerih je naročeno testiranje na *C. difficile* oz. pri katerih je *C. difficile* prisoten, je podobna kot v večini drugih študij; število bolnikov ženskega spola je bilo rahlo večje, pav tako običajen je visok delež bolnikov, starih 65 let ali več. Ti podatki kažejo, da bolniki s CDI v Sloveniji spadajo v običajno populacijo hospitaliziranih bolnikov, starejših od 65 let.<sup>9</sup> Takšna slika je lahko odraz dejanskega stanja, lahko pa je tudi posledica suma na CDI in zahtevane diagnoze samo pri tej dobro poznani skupini bolnikov. Nedavna raziskava v Španiji je pokazala, da dveh od treh epizod CDI ne prepoznajo.<sup>18</sup> Od vseh vzorcev, ki so bili v španski študiji ponovno testirani v referenčnem laboratoriju, jih je imelo 19 % napačno negativni mikrobiološki izvid, pri 47,6 % vzorcev pa preiskave na *C. difficile* zdravnik sploh ni odredil.

Povprečen delež pozitivnih vzorcev od vseh testiranih za Slovenijo v dvomesečnem obdobju študije je bil 17,9 %. Dva laboratorija (ZZV Nova Gorica in ZZV Koper) v obdobju raziskave nista imela pozitivnih vzorcev, čeprav je bilo število opravljenih preiskav primerljivo z nekaterimi laboratoriji, ki so imeli pozitivne vzorce. Razlogi za to niso znani. Ker vsaj v enem od laboratorijev uporabljajo tudi molekularne metode, je verjetnost lažno negativnih rezultatov majhna. Bolj verjeten je zato dejansko nizek delež okužb s *C. difficile* v tej regiji. Prav tako se razlikuje število zahtevanih preiskav in delež pozitivnih vzorcev med severovzhodno (Maribor, Celje, Murska Sobota) in osrednjo regijo (Ljubljana, Kranj, Novo mesto) (Tabela 2). Razlike sovpadajo z visokim deležem sevov PCR ribotipa 027 v severovzhodni regiji (regija A).

Ribotip 027 je bil v dvomesečnem obdobju študije najpogostejši ribotip v Sloveniji. Vendar je njegova razporeditev po posameznih ožjih regijah neenakomerna. PCR ribotip 027 spada med t. i. visokovirulentne ribotipe, ki so pogosto, vendar ne vedno, povezani s težjimi oblikami CDI in povišano smrtnostjo.<sup>8,10</sup> Ta ribotip je bil od leta 2003 zelo razširjen v severni Ameriki in nekaterih državah EU,<sup>8</sup> kjer je povzročal obsežne izbruhe. V EU se je v letu 2008 njegova pojavnost v večini držav znižala.<sup>9</sup> V Sloveniji smo ga prvič zaznali leta 2010, ko smo imeli skupno 16 sevov, poslanih iz treh diagnostičnih laboratorijev. Ta ribotip se je nato očitno zelo razširil in je bil v tu predstavljenem zimskem obdobju od decembra 2011 do februarja 2012 najpogostejši ribotip, prisoten pa predvsem v SV Sloveniji. ZZV Novo mesto je bil edini laboratorij, ki ni imel sevov ribotipa 027. Ribotip 027 se v bolnišnici zelo hitro razširi, v okolju se tudi dlje časa ohranja, prisotnost pa zahteva številne ukrepe za obvladovanje okužb.<sup>19</sup> Trenutno je PCR ribotip 027 zelo razširjen tudi v dveh sosednjih državah, na Madžarskem<sup>20</sup> in v Avstriji (A. Indra, neobjavljeni podatki).

Drugi najpogostejši ribotip je bil tip 014/020. V dvomesečnem obdobju študije le ZZV Kranj in ZZV Novo mesto nista imela izolatov ribotipa 014/020. Ta ribotip je trenutno najpogostejši v državah EU<sup>9</sup> ter

v eni od redkih študij iz ZDA, ki uporablja ribotipizacijo.<sup>18</sup> Tudi v Sloveniji je ta ribotip že nekaj let najpogostejši ribotip pri ljudeh, najdemo pa ga tudi v nebolnišničnem okolju (reke) in pri živalih.<sup>17</sup> Kljub pogostosti ne povzroča bolnišničnih izbruhov.

Raznolikost preostalih sevov, od 027 in 014/020 različnih izoliranih sevov, je bila velika (Preglednica 2). Ribotip 150 se je edini v preiskovanem zimskem obdobju pojavljal v vseh laboratorijih. Ta ribotip ni pogosto opisan v drugih državah ali študijah, tudi v nedavni vseevropski študiji ni bil med najpogostejšimi ribotipi.<sup>9</sup> Dvanajst sevov iz desetih ribotipov je bilo netoksinogenih.

Prvih pet najpogostejših ribotipov v Sloveniji smo zaznali v osrednji in severovzhodni regiji, vendar pa se regije med seboj tudi razlikujejo po nekaterih drugih ribotipih, ki so prisotni le v ožjem lokalnem področju. Čeprav ZZV Koper in ZZV Nova Gorica v času študije nista imela pozitivnih vzorcev, smo na ZZV Maribor v preteklih letih prejeli v tipizacijo manjše število sevov tudi iz teh dveh laboratorijev (M. Rupnik, neobjavljeni podatki). Podatki o PCR ribotipih, določenih pri sevih, ki so jih v Kopru in Novi Gorici osamili zunaj obdobja študije, so za primerjavo prikazani v Tabeli 2. Tudi v tem primeru so prisotni sevi iz najpogostejših ribotipov v Sloveniji (014/020 in 150) ter nekateri drugi, manj pogosti ribotipi.

## Zaključki

Povzamemo lahko, da so okužbe z bakterijo *C. difficile* v zimskem obdobju v Sloveniji pogoste, razen na območju Kopra in Nove Gorice. Večina bolnikov s CDI so starejši (>65 let) hospitalizirani pacienti. PCR ribotipi so raznoliki, vendar se več kot polovica sevov uvršča v le dva ribotipa, 014/020 in 027. Od tega 027 prevladuje predvsem v širši severovzhodni Sloveniji, kjer tudi delež pozitivnih vzorcev nakazuje na prisotnost večjih izbruhov v času raziskave.

## Literatura

- Rupnik M, Wilcox MH, Gerding DN. Clostridium difficile infection: new developments in epidemiology and pathogenesis. *Nat Rev Microbiol* 2009; 7: 526–36.
- Kuntz JL, Chrischilles EA, Pendergast JF, Herwaldt LA, Polgreen PM. Incidence of and risk factors for community-associated Clostridium difficile infection: a nested case-control study. *BMC Infect Dis* 2011; 11: 194.
- Rouphael NG, O'Donnell JA, Bhatnagar J, Lewis F, Polgreen PM, Beekmann S, et al. Clostridium difficile-associated diarrhea: an emerging threat to pregnant women. *Am J Obstet Gynecol* 2008; 198: 635.e1-e6.
- Kim J, Smathers SA, Prasad P, Leckerman KH, Coffin S, Zaoutis T. Epidemiological features of Clostridium difficile-associated disease among inpatients at children's hospitals in the United States, 2001–2006. *Pediatrics* 2008; 122: 1266–70.
- Chernak E, Johnson CC, Weltman A, McDonald LC, Wiggs L, Killgore G, et al. Severe Clostridium difficile-associated disease in populations previously at low risk—four States. *MMWR* 2005; 54: 1201–5.
- Janežič S, Rupnik M. Molecular typing methods for Clostridium difficile: pulsed-field gel electrophoresis and PCR ribotyping. *Methods Mol Biol* 2010; 646: 55–65.
- Janežič S, Strumbelj I, Rupnik M. Use of modified PCR ribotyping for detection of Clostridium difficile ribotypes directly in stool samples. *J Clin Microbiol* 2011; 49: 3024–5.
- Kuijper EJ, Coignard B, Tull P. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12 (6 Suppl): s2–18.
- Bauer MP, Notermans DW, van Benthem BH, Brazier JS, Wilcox MH, Rupnik M, et al. Clostridium difficile infection in Europe: a hospital-based survey. *Lancet* 2011; 377: 63–73.
- Barbut F, Rupnik M. Editorial Commentary: 027, 078, and Others: Going Beyond the Numbers (and Away From the Hypervirulence). *Clin Infect Dis* 2012; 55(12): 1669–72.
- Lejko-Zupanc T, Zakelj J, Strle F, Janc M, Pleterški-Rigler D. Influence of ceftriaxone on emergence of Clostridium difficile. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36: 2850–1.
- Pokorn M, Radšel A, Čižman M, Jereb M, Karner P, Kalan G, et al. Severe Clostridium difficile associated disease in children. *Pediatr Infect Dis J* 2008; 27: 944–6.
- Reberšek Gorišek J, Rejc-Marko J, Rupnik M, Baklan Z. Značilnosti driske povzročene z bakterijo Clostridium difficile v Univerzitetnem Kliničnem Centru Maribor, od junija 2006 do decembra 2007. In: Beović B, Strle F, Čižman M, eds. *Novosti v infektologiji: sodobna raba antibiotikov, ki jih uporabljamo že desetletja, okužbe s CMV*. Ljubljana: Sekcija za kemoterapijo SZD; 2008. p. 167–73.
- Rupnik M, Kotnik-Kevorkijan B. Clostridium difficile: ali postaja pogostejši tudi v Sloveniji?. *JAMA [Slov. tiskana izd.]* 2009; 17: 107–8.
- Zidaric V, Zemljic M, Janezic S, Kocuvan A, Rupnik M. High diversity of Clostridium difficile genotypes isolated from a single poultry farm producing replacement laying hens. *Anaerobe* 2008; 14: 325–7.
- Delmee M, Van Broeck J, Simon A, Janssens M, Avesani V. Laboratory diagnosis of Clostridium difficile-associated diarrhoea: a plea for culture. *J Med Microbiol* 2005; 54: 187–91.
- Janezic S, Ocepek M, Zidaric V, Rupnik M. Clostridium difficile genotypes other than ribotype 078 that are prevalent among human, animal and environmental isolates. *BMC Microbiol* 2012; 12: 48.
- Alcalá L, Martín A, Marín M, Sánchez-Somolinos M, Catalán P, Peláez T, et al. The undiagnosed cases of Clostridium difficile infection in a whole nation: where is the problem? *Clin Microbiol Infect* 2012; 18: 204–13.
- Gerding D, Muto C A, Owens RC. Measures to control and prevent Clostridium difficile infection. *Clin Infect Dis* 2008; 46 (1 Suppl ): s43–9.
- Terhes S, Soki J, Latkoczy K, Szikra L, Konkoly-Thege M, Princz G, et al. Changes in the epidemiology and antibiotic susceptibility pattern of nosocomial and community-acquired Clostridium difficile in Hungary. In: Rupnik M, Janežič S, eds. *Abstract book. 4th International Clostridium difficile Symposium; 2012 september 20.-22.; Bled, Slovenija*. Maribor: Zavod za zdravstveno varstvo Maribor; 2012.
- Walk ST, Micic D, Jain R, Lo ES, Trivedi I, Liu EW, et al. Clostridium difficile Ribotype Does Not Predict Severe Infection. *Clin Infect Dis* 2012; 55: 1661–8.