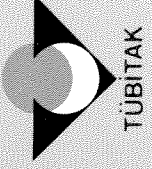


579.852.13
H 356 k

1996-3641



TÜRKİYE BİLİMSEL VE
TEKNİK ARAŞTIRMA KURU

THE SCIENTIFIC AND TECHNICAL
RESEARCH COUNCIL OF TURKEY

HASTANEDE KAZANILAN

CLOSTRIDIUM DIFFICILE KOLONİZASYONU

VE BUNA BAĞLI HASTALIK İNSİDANSININ ARAŞTIRILMASI

PROJE NO: TAG-0766

TÜRKİYE BİLİMSEL VE
TEKNİK ARAŞTIRMA
KURUMU KÜTÜPHANESİ

Tıp Araştırma Grubu

Medical Sciences Research Grant Committee

579.852.13

H356k

HASTANEDE KAZANILAN

CLOSTRIDIUM DIFFICILE KOLONİZASYONU

VE BUNA BAĞLI HASTALIK İNSİDANSININ ARAŞTIRILMASI

PROJE NO: TAG-0766

DOÇ. DR. GÜNER SOYLETİR
UZM. DR. AYŞEGÜL ESKİTÜRK
YÜK. HEM. GÜNAY KILIÇ
PROF. DR. NURDAN TÖZÜN
YAR. DOÇ. DR. VOLKAN KORTEN

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi

HAZİRAN 1993

İSTANBUL

TÜRKİYE BİLİMSEL VE
TEKNİK ARAŞTIRMA
KURUMU KÜTÜPHANESİ

17255 Bağcı. Eylül 1993

ÖNSÖZ

Clostridium difficile asemptomatik taşıyıcılıktan pseudomembranöz enterokolite dek değışebilen klinik tablo oluşturmakta ve antibiyotiğe bağlı ishallerin % 15-25 'inden, pseudomembranöz enterokolitlerin % 99'undan sorumlu tutulmaktadır.Deęiřik ÷lkelerde değişen oranlarda olmakla birlikte tüm dñnyada yaygın olan Clostridium difficile enfeksiyonlarının ÷lkemizdeki hastanelerde kazanılma oranını ve buna neden olan risk faktörlerini belirleyebilmek üzere yapılan bu çalışma TUBİTAK tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
1.Özet.....	1
2.Summary.....	3
3.Giriş.....	5
4.Gelişme.....	12
a.filtratların hazırlanması.....	13
b.hücre kültürünün hazırlanması.....	14
c.toksin assay.....	15
5.Sonuç.....	18
6. Kaynaklar.....	27
7.Ek bölüm	
8. Bibliyografik bilgi formu	

OZET

Clostridium difficile asemptomatik taşıyıcılıktan pseudomembranöz enterokolite dek değişebilen klinik tablo oluşturmakta ve antibiyotige bağlı ishallerin % 15-25 'inden, pseudomembranöz enterokolitlerin % 99'undan sorumlu tutulmaktadır.

Bu çalışma hastaneye yattıkları süre içinde Clostridium difficile ile kolonize olan hasta sayısını;bu kolonizasyon için gerekli risk faktörlerinin neler olduğunu ve bu hastalarda ishal gelişme oranını saptamak amacıyla yapılmıştır.

Çalışma süresince 346 hastadan, ilki hastaneye yattıkları ilk 24 saat içinde olmak üzere ilk iki hafta haftada iki, daha sonra haftada bir olacak şekilde toplanan 1154 rektal sürüntü örneği alınmış ve Clostridium difficile izolasyonu için CCFA besiyerine ekilerek 48 saat anaerob ortamda inkübe edilmiştir. 114 hasta hastanede 48 saatten az yattıkları için kolonizasyon için gerekli risk faktörlerinin istatistiksel değerlendirilmesi 202 hasta ile yapılmıştır.202 hastanın 45'inde (%22.3) hastane enfeksiyonu olarak ishal gelişmiştir.Yaş, cins, antiasid ve laksatif kullanımı dışında taranan tüm faktörlerin ishal gelişimi için risk oluşturduğu gözlenmiştir.

202 hastanın 14'ü(% 6.3) hastanede yattıkları süre içinde Clostridium difficile ile kolonize olmuş ve bunların 10'unda (%71.4) bu mikroorganizmanın toksinine bağlı ishal gelişmiştir. 3 hastada endoskopi bulgusu olarak pseudomembranöz enterokolit gösterilmiştir. Clostridium difficile kolonizasyonu için risk faktörleri olarak ampisilin, sefalosporin gibi beta laktamların kullanılması; tıbbi girişim uygulanması ve yoğun bakıma yatış belirlenmiştir($p<0.05$).

SUMMARY

Clostridium difficile, causing clinical syndromes ranging from asymptomatic carrier state to pseudomembranous enterocolitis, is responsible for 15-25 % of antibiotic associated diarrhea and 99% of pseudomembranous enterocolitis.

This study has been carried out in order to determine the colonisation rate of *Clostridium difficile*, risk factors for this colonisation and development of diarrhea in hospitalised patients.

During the study period a total of 1154 rectal swab samples, taken within the first 24 hours; twice a week for the first 2 weeks ; once a week for the rest of their hospitalisation, were collected from 346 patients. After inoculation of CCFA medium cultures were incubated anaerobically for 48 hours.

Statistical evaluation were performed with only 202 patients since other 144 patients were hospitalised for less than 48 hours. Of the 202 patients nosocomial diarrhea was developed in 45 (22.3 %) of them. With the exception of age, sex, chemotherapy, usage of laxatives and antiacids, all screened factors seemed to be risk factors for development of diarrhea.

Fourteen patients(6.3%) have been colonised with Clostridium difficile during their hospitalisation and 10 of them(71.4%) developed diarrhea due to toxin. Pseudomembranous enterocolitis has been observed in 3 of diarrheal patients endoscopically. Administration of beta lactams such as ampicilline,cephalosporins; medical manipulations and staying in intensive care unit have been determined as risk factors for Clostridium difficile colonisation.

GİRİŞ

Clostridium difficile , sporlu Gram pozitif bir basıl olup doğal olarak toprakta, kedi, köpek, sığır, at gibi hayvanların ve insanların başta dışkı olmak üzere çeşitli çıkartılarında bulunabilen anaerob bir bakteridir ve normal florada bulunabilen bu bakteri, son yıllarda çeşitli faktörlerin etkisi ile barsak patojeni olarak tanımlanmaya başlamıştır .

Clostridium difficile antibiyotige bağlı ishallerin ve pseudomembranöz enterokolitlerin en önemli nedenlerinden biridir. Son zamanlarda hastanede yatan hastalarda sıklıkla saptanan enterik patojenlerden biri olarak karşımıza çıkmaktadır. İlk kez 1977 'de bu mikroorganizmanın enterik patojen olarak bildirilmesinden bu yana mikroorganizmanın hangi mekanizmalarla hangi koşullar altında enfeksiyon oluşturduğuna ilişkin çeşitli araştırmalar yapılmış olmakla beraber enfeksiyon gelişimindeki faktörlerin ne ya da neler olduğu tam açıklığa kavuşamamıştır.

Bu fırsatçı patojenin neden olduğu barsak hastalıklarının patogenezesinden şu faktörlerin sorumlu olduğu düşünülmektedir:

1. Normal barsak florasında herhangi bir nedenle değişme
2. Endojen ya da eksojen kaynaklı *C. difficile* kolonizasyonu
3. Mikroorganizmanın toksin üretebilmesi

Normal floradaki değişikliğin C. difficile enfeksiyonu için önemli kriterlerden biri olduğunu destekleyen araştırmalara göre oral olarak C. difficile verilen hayvanlar enfeksiyon geliştirmemekte ancak bu hayvanlara mikroorganizmayla beraber antibiyotik uygulandığında kolit gelişmektedir (Bartlett, 1981). Bu da kullanılan antibiyotiklere bağlı flora değişikliğiyle enfeksiyon arasındaki ilişkiyi doğrulamaktadır.

Enfeksiyon patogenezinin ikinci koşulu C. difficile'nin barsaktaki varlığını gerekli kılmaktadır.Sağlıklı bireylerde yeni doğan döneminden itibaren bu mikroorganizma barsakta değişen oranlarda bulunabilmektedir.Aseptomatik yeni doğanlarda % 65' lere varan taşıyıcılık oranı yaşla birlikte düşmekte ve erişkin yaş grubunda % 0-3 lere kadar inebilmektedir (George, 1986).Ancak hastanede belli servislerde uzun süre yatma ve antibiyotik kullanımıyla birlikte bu oran belirgin şekilde artmaktadır.

Clostridium difficile nedenli barsak hastalığının 3. koşulu mikroorganizmanın toksin üretme yeteneğinin bulunmasıdır. Clostridium diffcilenin invazyon yeteneğini kanıtlayan herhangi bir veri yoktur ve hastalık tablosu tamamen toksin üretimiyle ilişkilidir (Taylor,1981). Mikroorganizma iki tip toksin üretmektedir: Toksin A ve Toksin B . Toksin B bilinen en kuvvetli sitotoksinlerden biridir ve 1 pgr bile hücrelerde toksik etki oluşturmak için yeterlidir. Enterotoksin olarak bilinen toksin A nın da zayıf sitopatik etkisinin bulunduğu ve deney hayvanlarında

barsak enfeksiyonu oluşturduğu gösterilmiştir. Sitotoksin direkt hücre membranını etkilemekte; hücrelerde oluşturduğu değişiklikler elektron mikroskobuyla 1 saat sonra, ışık mikroskobuyla 24-48 saat sonra gösterilebilmektedir (Chang, 1979).

Diğer birçok enterik patojen gibi C. difficile asemptomatik taşıyıcılıktan, çok ağır kolite dek değişebilen hastalık tablosu oluşturmaktadır. C. difficile antibiyotiğe bağlı ışhallerin % 15-25 inden sorumlu tutulmaktadır. C. difficile toksininin saptanma sıklığı semptomların süresi ve ciddiyetiyle orantılı olarak artmaktadır. Karın ağrısı, ateş ve lökositoz sıklıkla saptanan semptomlardır. Ciddi olgularda görülen komplikasyonlar toksik megakolon, kolon perforasyonu, elektrolit dengesinde bozulma ve anazarkaya neden olabilen hipoalbuminemidir. Kolon dışı belirtiler çok nadirdir ve poliartritile karakterizedir. Toksin A ve B sistemik olarak verildiği zaman deney hayvanlarında öldürücü olabilmekle beraber sistemik dolaşımda saptanamamaları nedeniyle inflamasyonlu barsak mukozasından emilime uğramadıkları düşünülmektedir (Bartlett, 1990).

Bazı hastalarda ışhal antibiyotiklerin kesilmesini takiben düzelmekte ancak bazı hastalarda sistemik bulgularla haftalar aylar sürerek kronikleşebilmektedir. C. difficile bu  zelliliğiyle kronik ışhal nedeni olan nadir patojenler arasında yer almaktadır.

barsak enfeksiyonu oluşturduğu gösterilmiştir. Sitotoksin direkt hücre membranını etkilemekte; hücrelerde oluşturduğu değişiklikler elektron mikroskopuyla 1 saat sonra, ışık mikroskopuyla 24-48 saat sonra gösterilebilmektedir (Chang, 1979).

Diğer birçok enterik patojen gibi C. difficile asemptomatik taşıyıcılıktan, çok ağır kolite dek değişebilen hastalık tablosu oluşturmaktadır. C. difficile antibiyotige bağlı ışhallerin % 15-25 inden sorumlu tutulmaktadır. C. difficile toksininin saptanma sıklığı semptomların süresi ve ciddiyetiyle orantılı olarak artmaktadır. Karın ağrısı, ateş ve lökositoz sıklıkla saptanan semptomlardır. Ciddi olgularda görülen komplikasyonlar toksik megakolon, kolon perforasyonu, elektrolit dengesinde bozulma ve anazarkaya neden olabilen hipoalbuminemidir. Kolon dışı belirtiler çok nadirdir ve poliartritile karakterizedir. Toksin A ve B sistemik olarak verildiği zaman deney hayvanlarında öldürücü olabilmekle beraber sistemik dolaşımda saptanamamaları nedeniyle inflamasyonlu barsak mukozasından emilime uğramadıkları düşünülmektedir (Bartlett, 1990).

Bazı hastalarda ışhal antibiyotiklerin kesilmesini takiben düzelmekte ancak bazı hastalarda sistemik bulgularla haftalar aylar sürerek kronikleşebilmektedir. C. difficile bu zelliliğiyle kronik ışhal nedeni olan nadir patojenler arasında yer almaktadır.

C. difficile'nin laboratuvar tanısında ilk adım, uygun koşullarda alınan klinik materyalin seçici besiyerine ekilmesidir. Bu amaçla en çok kullanılan ve güvenilirliği kanıtlanmış olan Cyclocerine-cefoxitin-fructose agar (CCFA) dır (Iwen, 1989). Besiyerlerine % 0.1 lik taurocholate eklenmesinin spor formlarının tesbitini arttırdığı gösterilmiştir (Wilson, 1981). Anaerobik ortamda 48 saat inkubasyon sonrası 5-8 mm boyunda sarımsı, düzensiz kenarlı, buzlu cam görünümünde koloniler oluştururlar. P-crezol benzeri tipik bir kokuya sahiptir.

Tanıda 'altın standart' hücre kültürüyle sitotoksinin saptanmasıdır. Ancak hücre kültüründe toksinin spesifik etkisinin ve antitoksinle bu etkinin nötralizasyonunun gösterilmesi sadece bazı referans laboratuvarlarında mevcut olan bir yöntemdir. Bu nedenle hassasiyetleri hücre kültürü kadar yüksek olmayan bazı diğer yöntemler daha yaygın olarak kullanılmaktadır.

Bu yöntemlerden biri olarak uygulanım kolaylığı nedeniyle lateks aglutinasyon metodunun (Culturette Brand C. difficile test) kullanılması önerilmektedir. Ancak önceleri toksin A yı saptadığına inanılan bu testin C. difficile' nin bir antijenini göstermesi dolayısıyla toksijenik olanla olmayanı ayıramadığı bildirilmiştir (Bennet, 1989).

Mayıs 1992'de yayınlanan bir çalışmada araştırmacılar yeni bir ticari sistem olan Premier C. difficile toxin A enzyme immunoassay (Meridian Diagnostics) ile Toksin A 'nın % 86.6 duyarlılık ve % 99 özgüllükle gösterilebildiğini ve toksin B 'nin varlığına referans olarak gösterilebileceğini savunmaktadır (Girolami,1992).

Ağustos 1992' de yayınlanan bir diğer çalışmadaysa toksin A ve B' yi saptayabilen monoklonal antikörlerin kullanıldığı CBC enzyme immunoassay (Cambridge Biotech Corp.) metodu ticari hücre kültürü toksin yöntemi (CTA, Bartels Immunodiagnostic supplies) Meridian enzyme immunoassay ile karşılaştırılmıştır.CTA metodunda plaklar fibroblast hücreleriyle kaplıdır ve dışkı filtratlarının toksik etkisi direkt bu plaklar kullanılarak gözlelenebilir.Toksik etki en az % 25 hücrede antitoksinle nötralize edilen yuvarlaklaşma olarak kabul edilir.Sonuç olarak Meridian enzyme immunoassay %69 hassasiyet ve % 100 özgüllükte;Bartels CTA metodu % 100 hassasiyet ve % 100 özgüllükte; CBC enzyme immunoassay % 84.5 hassasiyet ve % 99.2 özgüllükte bulunmuştur (Doern,1992).

Yeni tanı metodlarından biri olan PCR bu amaçla kullanılabilecek en hassas yöntemlerden biridir. Anaerobik kültürden 100 kat hassas olduğu gösterilen bu metodla dışkıdaki çok sayıda bakteriye rağmen son derece az sayıdaki C. difficile'nin varlığını saptamak mümkün olabilmektedir (Gumerlock,1990).

Anatomik çalışmalar tercihan endoskopiyle yapılmaktadır. Sigmoidoskopi genellikle yeterlidir, ancak hastaların üçte birinde kolonun daha yukarı kısımları tutulduğundan kolonoskopi gerekli olmaktadır.Çoğu vakada bulgular eritem,ödem ve kolon mukozasında frajilite gibi spesifik olmayan bulgularla sınırlıdır.Ancak endoskopide pseudomembranların görülmesi özellikle antibiyotik kullanım öyküsü olan hastalarda ishal etkeninin C. difficile olduğunu kuvvetle destekler.Endoskopinin en önemli avantajı hemen uygulanabilir olması ve pseudomembranların görülmesinin ön tanı açısından çok önemli olmasıdır.Ancak hastaya verdiği rahatsızlık ve getirdiği ekonomik yük nedeniyle yaygın olarak kullanılabiliirliği tartışmalıdır (Bergstein,1990).

Pseudomembranöz kolit olgularının çoğu ayaktan izlenen hastalarda sporadik olarak görülmekle beraber ,hastane ve bakım evlerinde epidemik ve endemik olarak da görülebilmektedir (Bender, 1986). Bu durum dış kaynaklarda bulunan C. difficile' nin özellikle yaygın antibiyotik kullanımına bağlı olarak bu tür yerlerde önemli bir etken haline gelmesine bağlanmaktadır.Çevresel kontaminasyon ve sağlık personelinin elleriyle kazanılan kolonizasyon oranı % 49'lara varabilmektedir (Mc Farland,1989). Hastanede yatan hastalarda Clostridium difficile kolonizasyonu hastalığın tipine, antibiyotik kullanımına, koğuşlarda çevresel kontaminasyona neden olabilecek antibiyotik nedenli ishal ya da kolit varlığına bağlı olabilir. Clostridium difficile kolonizasyonunun saptanmasını laboratuvar

tanısında kullanılan metodlar da etkileyebilir. Hastalardaki taşıyıcılık oranının belirlenmesinde en uygun yöntem hastaların hastaneye yatışından hemen sonra başlayan prospektif tarama çalışmasıdır. Heard ve arkadaşları bu çalışmayı çoğunluğunu onkoloji hastalarının oluşturduğu bir popülasyonla yaparak immün sistemi baskılanmış hastalarda nozokomiyal kolonizasyon oluşabileceğini göstermiş, aynı zamanda izole ettikleri suşlara SDS page elektroferez uygulayarak yaptıkları tiplendirme sonucunda çapraz enfeksiyonun önemli bir sorun oluşturduğunu ortaya koymuşlardır (Heard, 1986) Heard ve arkadaşlarının yaptıkları bu çalışmada dahiliye hastalarında Clostridium difficile 'ye bağlı kolonizasyon oranı % 3.9 iken bu oran Tabaqchali ve arkadaşlarının çalışmasında diyaliz hastaları için % 8.2, geriatri hastaları için % 10.3, hematoloji hastaları için % 8.6 olarak belirlenmiştir (Tabaqchali, 1992)

Bu çalışmaya başlamadan önce ülkemizde de antibiyotige bağlı ishal olgularının azımsanmayacak kadar olduğu, Marmara Üniversitesi Hastanesinde yatan hastalarda gözlenen gastroenteritlerin, nozokomiyal enfeksiyonlar arasında 4. sırayı oluşturduğu saptanmıştı ; ancak bu olgularda antibiyotige bağlı ishal insidansını ve Clostridium difficile' nin rolünü söyleyebilmek mümkün değildi. Tüm dünyada böylesine önemli bir barsak patojeni olarak karşımıza çıkan bu mikroorganizmanın nozokomiyal geçişini ve buna bağlı ishal insidansını araştırmak üzere bu çalışma planlanmıştır.

GELİTİŞME

Bir yıllık süre içinde Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi iç Hastalıkları servisine yatırılan 16 yaşından büyük hastalar C.difficile kolonizasyonu açısından araştırıldı. Her yeni yatan hasta enfeksiyon kontrol hemşiresi tarafından tesbit edilerek çalışmaya alındı.48 saatten az yatan hastalar çalışma kapsamı dışında bırakıldı.Çalışma boyunca hastalar C.difficile kolonizasyonu, C. difficile' ye bağlı ishal ve buna yol açabilecek risk faktörleri açısından izlendi.Bunun dışında diğer servislerde yatan ve hastaneye yattıktan sonra ishal gelişen hastalarda da ishalin bakteriyolojik ve parazitolojik etiyojisi araştırıldı ve C.difficile' nin bu tablodaki yeri belirlendi.

iç hastalıkları servisine yatırılan hastalardan ilki 24 saat içinde olmak üzere ilk iki hafta haftada iki; daha sonra yattıkları süre içinde haftada bir rektal sürüntü alınmasına itirazları olmadığına dair sözlü onayları alındı.Hastalar yatmadan önceki 2 ay içinde hastaneye yatış, antibiyotik kullanımı ve kanser kemoterapisi,gastrointestinal girişimler,inflamatuar barsak hastalığı, böbrek hastalığı gibi risk faktörleri açısından sorgulandıktan sonra yattıkları süre boyunca özel araştırma formları ile takipleri yapıldı.(Form örneği ekte sunulmuştur).Çalışma süresince hastalar primer ve sekonder tanıları, altta yatan hastalık ya da hastalıkları, aldıkları tüm ilaçların adları ve süreleri, günlük gaita karakteri-sıklığı, ateş, tam kan sayımı, mekanik barsak

hazırlıkları, cerrahi işlemler açısından izlendi ve formlarına bu bilgiler işlendi.

Alınan rektal sürüntü örnekleri % 1 lik taurocholate(Difco) içeren Thioglycollate sıvı besiyerinde (Oxoid) 15 dakika içinde laboratuara nakledildi (Mc Farland ,1987). Örnekler Cycloserine - Cefoxitin- Amphotericin B içeren selektif karışımın (Biomerieux) CCFA agara (Hi Media) eklenmesiyle hazırlanmış özel besiyerlerine ekildi ve 48 saat anaerobik ortam sağlayan kavanozda (Oxoid) inkübe edildi.inkübasyon sonrasında bu seçici besiyerinde üreyen sporlu, Gram pozitif, özel bir kokuya sahip basiller,biyokimyasal testlerle diğer yakın Clostridiumlardan ayrımları yapılarak C.difficile olarak tanımlandı(Bowman,1988).

Yattıkları süre içerisinde ishal gelişen hastalardan kap örnekleri de alındı. Dışkı örneklerinin ishale yol açabilecek ajanlar yönünden mikroskopik, bakteriyolojik ve parazitolojik incelemeleri yapıldı.

Dışkı örneklerinde toksin saptamak amacıyla aşağıdaki prosedür uygulandı(Bowman,1986):

A) *Filtratların hazırlanması*

1.Dışkı filtratları: ishalli hastalardan alınan kap örnekleri 1:1 olacak şekilde PBS(Phosphate buffered saline) ile sulandırıldı.3000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi. Dışkı

süpernatantları 45 µm lik filtreden süzülerek örnekler çalışılana dek - 70 °C de saklandı. Çalışma sırasında bu filtratlar çözülerek steril PBS ile 100 kez sulandırıldı.

2. Antiserum (TECHLAB, INC. Virginia Tech Corporate Research Park 1861 Pratt Drive Blacksburg, VA 24061) : (%4 formalinle inaktive edilmiş Clostridium difficile kültür filtratının keçiye verilmesiyle elde edilen) 3 ml steril distile suyla çözöldü. 1:25 oranında steril PBS ile sulandırıldı.

3. Kültür filtratı: (VPI 10463 suşunun beyin kalp infuzyon besiyerinde üretilmesiyle elde edilen) 1 ml distile suyla çözöldü. Steril PBS ile 10 kez sulandırıldı (Pozitif kontrol). Pozitif kontrol ve dışkı filtratları antitoksin ile karşılaştırmalı olarak kullanıldı.

B) Hücre kültürünün hazırlanması

Toksinin sitotoksik etkisini araştırmak üzere Vero hücre kültürü kullanıldı. Bunun için disposable flasklar içine EMEM (Earle 's Minimal Essential Medium), fütal dana serumu (%10), L-glutamine (2mM) ve non essential aminoasitler (%1) olacak şekilde kondu ve 1:30 oranında Vero hücresi (10^6 /ml olacak şekilde bu besiyerine eklendi.

24-48 saat 37 ° C de inkubasyon sonunda tek tabaka (monolayer) üretildikten sonra Trypsin EDTA karışımıyla tripsinize edilerek suspanse edilen hücreler aynı besiyeri

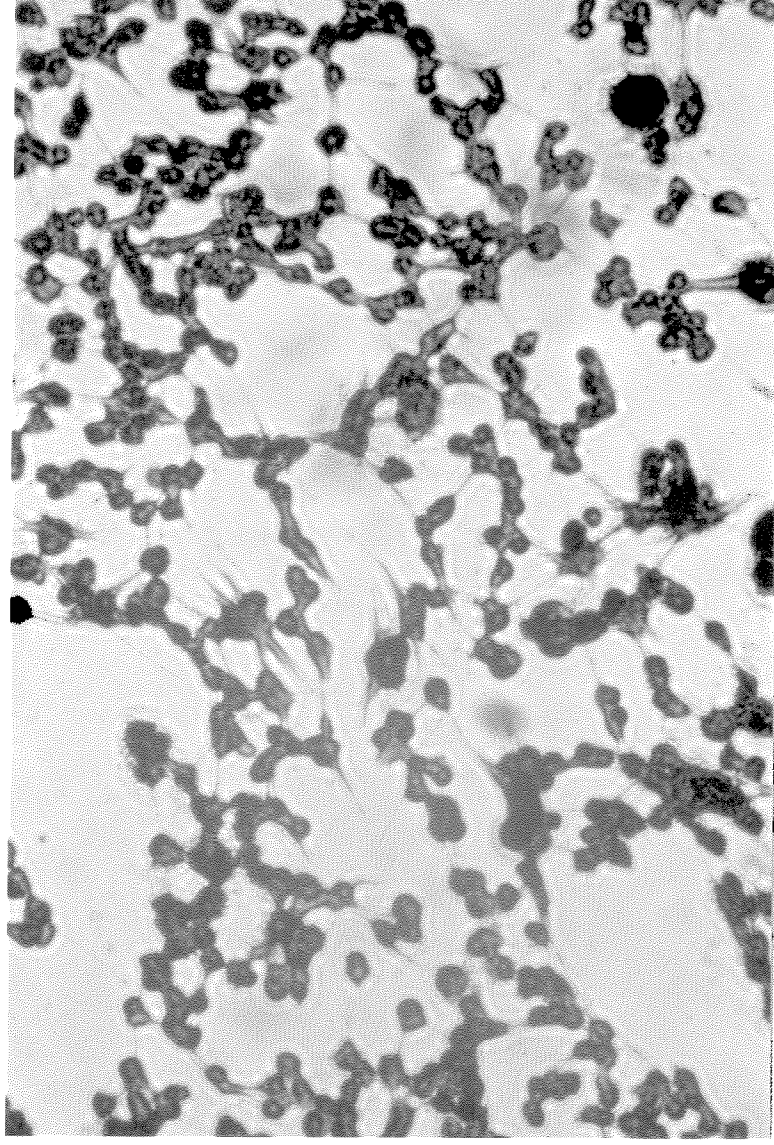
ortamına 10^6 /ml oranında eklenip 24 çukurlu plastik kaplara 1'er ml olarak dağıtıldı ve 24-48 saat tek tabaka halinde üretilmek üzere 36.5°C de inkübe edildi. Tek tabaka halinde üreyen hücrelerin besiyerleri içerisinde % 1 fötal dana serumu olan idame EMEM besiyeri (Maintenance medium) ile değiştirildi ve böylece sitotoksiste çalışılmak üzere tek tabaka Vero hücre kültürleri elde edildi.

C) Toksin assay

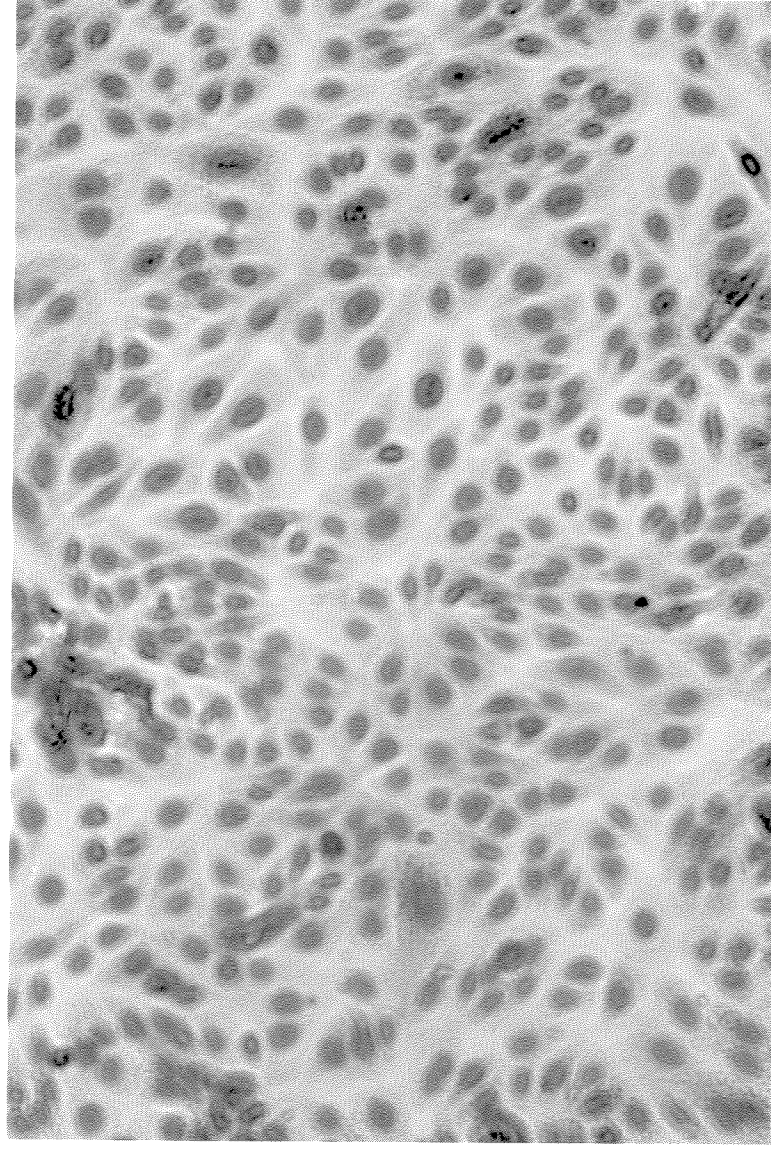
1. Sulandırılmış standard toksin antiserumla 1:1 oranında karıştırıldı. \((+)\) kontrol(Nötralizasyon)
2. Sulandırılmış standart toksin PBS ile 1:1 oranında karıştırıldı. \((-)\) kontrol(Sitotoksik etki)
3. Dışkı filtratı antiserumla 1:1 oranında karıştırıldı.
4. Dışkı filtratı PBS ile 1:1 oranında karıştırıldı.

Karışımlar oda ısısında 30 dakika inkübe edildi. Mikropipet ve steril uçlar kullanılarak her bir karışımdan 20 μl , tek tabaka hücre içeren çukurlara kondu. 37°C de 24 saat inkubasyon sonrası hücreler sitotoksik etki açısından değerlendirildi.

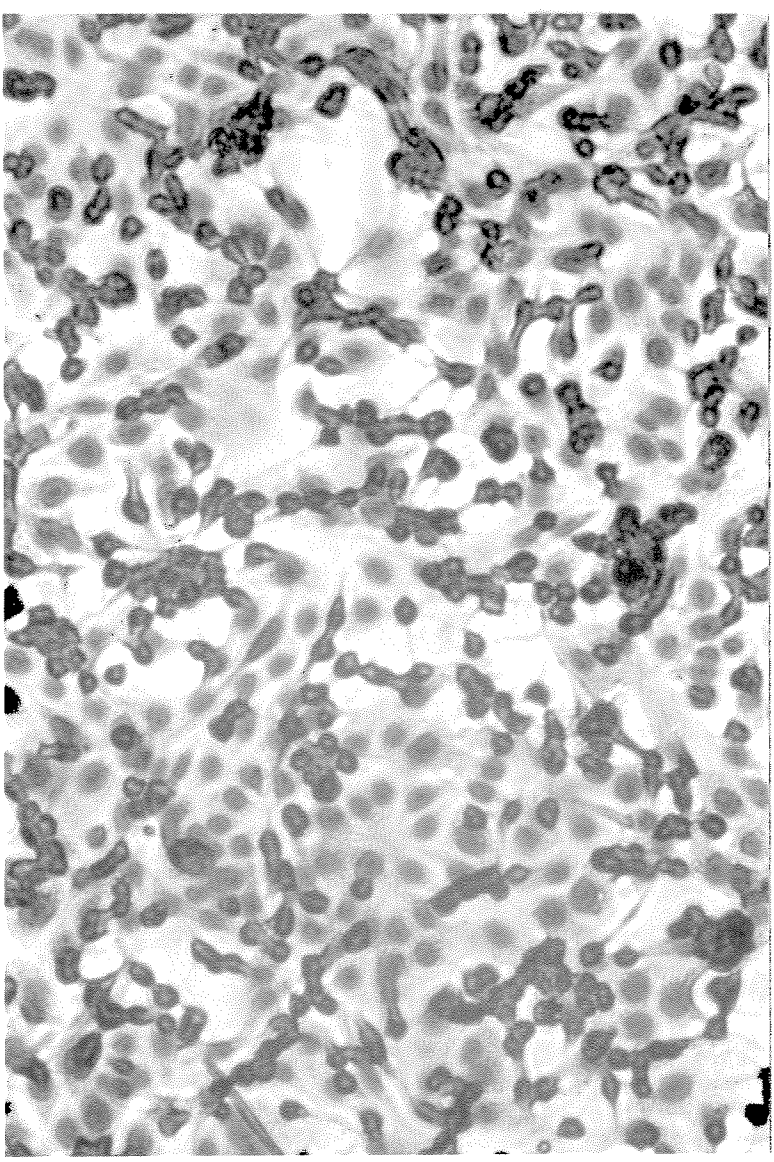
Clostridium difficile için sitotoksik etki 18-24 saatlik inkubasyondan sonra Vero hücrelerinde yuvarlaklaşma ve kümeleşme şeklinde gözlemlendi. Hücrelerde gözlediğimiz değişiklikler şekil 1-4'de gösterilmiştir.



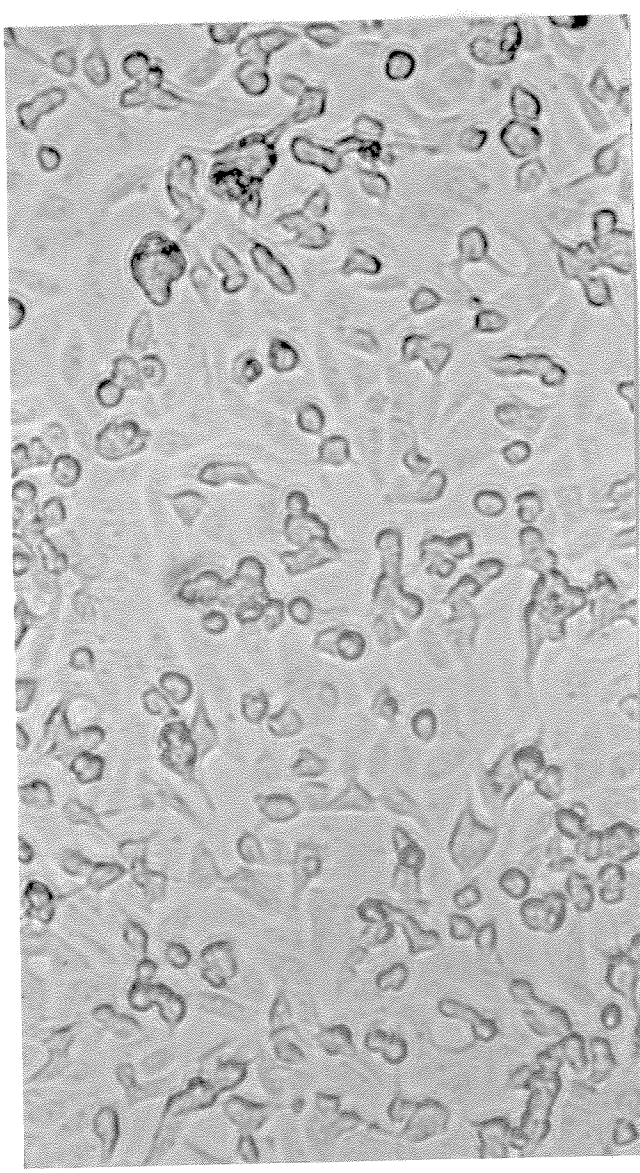
RESİM 1: Standart C. difficile toksininin Vero hücrelerine etkisi
 \Giemsa boyası\10x



RESİM 2: C. difficile toksin-antitoksin nötralizasyon \Giemsa
 boyası \ 10x



RESİM 3: Clostridium difficile sitotoksini pozitif dışkı süpernatantının hücrelere etkisi \Giemsa boyası \10 x



RESİM 4: Clostridium difficile sitotoksini pozitif dışkı süpernatantının hücrelere etkisi \Boyasız \10 x

SONUÇ

Bu çalışmayla bir yıl boyunca Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi dahiliye servisine yatırılan toplam 346 hasta hastanede kazanılan Clostridium difficile kolonizasyonu ve buna neden olan risk faktörleri açısından izlenmek üzere kaydedilmiştir. Bu süre boyunca yoğun bakım başta olmak üzere hastanenin diğer servislerinde yatarken ishal gelişen hastalar da çalışma kapsamına alınmıştır.

Bu hastalardan daha önce belirtilen sürelerde olmak koşuluyla toplam 1154 rektal sürüntü örneği Clostridium difficile açısından işleme alınmıştır.Hastaneye yattıklarında sözlü onayları alınarak çalışma protokoluna kaydedilen 376 hastadan 48 saatte az yatan 144 'ü çalışma kapsamı dışında bırakılmış ve 202 hasta ile çalışma sürdürülebilmiş ve risk faktörlerinin belirlenmesi amacıyla yapılan istatistik değerlendirme toplam 202 hastayla mümkün olabilmektedir.İstatistiksel değerlendirme için risk faktörleri açısından hastalar iki gruba ayrılmıştır.Hasta grupları tablo 1'de verilmiştir.

Çalışma grubundaki hastalardan 45 'inde (%22.3) hastanede yattıkları süre içerisinde ishal gelişmiştir.İshal gelişen hastaların gruplara göre dağılımı tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 1: Hastaların risk faktörlerine göre gruplandırılması

Faktör	Grup 0 (hasta sayısı)	Grup 1 (Hasta sayısı)
Yaş	<40 (74)	>40 (128)
Cins	erkek (99)	kadın (103)
AYH *	yok (9)	var (193)
Girişim**	yok (150)	var (52)
H ₂ bloker	yok (126)	var (76)
Ampisilin	yok (136)	var (66)
Sefalosporin	yok (144)	var (58)
Vankomisin	yok (187)	var (15)
Aminoglikozid	yok (157)	var (45)
Kinolon	yok (166)	var (36)
Diğerleri***	yok (176)	var (26)
Kemoterapi	yok (172)	var (30)
Antiasid	yok (184)	var (18)
Laksatif	yok (189)	var (13)
Yatış süresi	<10 gün (62)	>10 gün (140)
Yoğun bakım	yok (189)	var (13)

Tablo 2: İshal gelişen hastaların toplam hasta sayısına ve risk faktörlerine göre dağılımı

Faktör	Grup 0 (Toplam hasta)/ishalli hasta	Grup 1 (Toplam hasta)/ishalli hasta
Yaş	(74)/21	(128)/24
Cins	(99)/27	(103)/18
AYH	(9)/0	(193)/45
Girişim	(150)/18	(52)/27
H ₂ bloker	(126)/22	(76)/23
Ampisilin	(136)/25	(66)/20
Sefalosporin	(144)/22	(58)/23
Vankomisin	(187)/37	(15)/8
Aminoglikozid	(157)/28	(45)/17
Kinolon	(166)/26	(36)/19
Diğerleri	(176)/29	(26)/26
Kemoterapi	(172)/35	(30)/10
Antiasid	(184)/41	(18)/4
Laksatif	(189)/41	(13)/4
Yatış süresi	(62)/3	(140)/42
Yoğun bakım	(189)/35	(13)/10

* Altta yatan hastalık , ** Nazogastrik sonda, cerrahi, endoskopi

*** Diğer antimikrobiyaller

Bu hastalardan alınan kap örnekleri ishale neden olabilecek patojenler açısından araştırılmış ve dışkı süpernatantları Clostridium difficile sitotoksini açısından çalışılmıştır. 45 hastada ishal gelişmesine neden olan risk faktörleri χ^2 testiyle değerlendirilmiş ve sonuçlar tablo 3'de verilmiştir. Buna göre hastanın yaşı, cinsi, laksatif kullanımı, antiasid kullanımı, H₂ bloker kullanımı ve kemoterapi alması dışındaki faktörlerin ishal gelişmesiyle doğrudan orantılı olduğu görülmektedir.

Tablo 3 : *ishal gelişimini etkileyen faktörler*

Faktör	χ^2 olasılığı (p)
yaş	-
cins	-
AYH	***
Girişim	***
H ₂ bloker	***
Ampisilin	***
Sefalosporin	***
Vankomisin	***
Aminoglikozid	***
Kinolon	***
Diğerleri	***
Kemoterapi	-
Antiasit	-
Laksatif	-
Yatış süresi	***
Yoğun bakım	***

*** istatistiksel olarak anlamlı bulunan faktörler

Hastanede yattıkları süre boyunca düzenli aralıklarla rektal sürüntü örnekleri , ishal gelişmesi durumunda kap örnekleri alınarak Clostridium difficile kolonizasyonu takip edilen 202

hastanın 14 'ünde (% 6.3) kolonizasyon saptanmış,bu hastaların 10'unda(% 71.4) bu mikroorganizmanın toksinine bağlı ishal gelişmiştir .45 ishal hastasının 10 'nunda etken olan Clostridium difficile 'nin hastanemizde kazanılan ishallerin %22.2 'sinden sorumlu olduğu görülmektedir.ishalli hastalara yapılan endoskopi sonuçlarına göre Clostridium difficileye bağlı ishal gelişen 3 hastada pseudomembranöz enterokolit gelişmiştir. Tüm hastalar metranidazol tedavisine cevap vermiştir.

Risk faktörleri göz önüne alınarak hastanede kazanılan Clostridium difficile kolonizasyonunun hasta gruplarına göre dağılımı tablo 4'de verilmiştir.

Tablo 4 : Hastaların risk faktörlerine göre dağılımı

Faktör	0 (hasta sayısı)/	1(hasta sayısı)/
	C.difficile kolonizasyonu	C.difficile kolonizasyonu
Yaş	(74)/5	(128)/9
Cins	(99)/7	(103)/7
AYH	(9)/0	(193)/14
Girişim	(150)/5	(52)/9
H2 bloker	(126)/5	(76)/9
Ampisilin	(136)/5	(66)/9
Sefalosporin	(144)/5	(58)/9
Vankomisin	(187)/11	(15)/3
Aminoglikozid	(157)/10	(45)/4
Kinolon	(166)/9	(36)/5
Diğerleri	(176)/13	(26)/1
Kemoterapi	(172)/13	(30)/1
Antiasid	(184)/12	(18)/2
Laksatif	(189)/14	(13)/0
Yatış süresi	(62)/1	(140)/13
Yoğun bakım	(189)/10	(13)/4

Bu verilere göre uygulanan χ^2 testinin sonuçları tablo 5 'de verilmiştir.(istatistik veriler ekte sunulmuştur).Buna göre incelenen risk faktörleri arasında hastaya girisim uygulanması, ampisilin ve sefalosporin kullanımı,yoğun bakımda yatış hastanede kazanılan Clostridium difficile kolonizasyonunu etkileyen risk faktörleridir.

Tablo 5: Hastanede kazanılan Clostridium difficile kolonizasyonunu etkileyen risk faktörleri

Faktör χ^2 olasılığı (p)

yaş	-	
cins	-	
AYH	-	
Girişim	***	<0.01
H2 bloker	-	
Ampisilin	***	<0.05
Sefalosporin	***	<0.01
Vankomisin	-	
Aminoglikozid	-	
Kinolon	-	
Diğerleri	-	
Kemoterapi	-	
Antiasit	-	
Laksatif	-	
Yatış süresi	-	
Yoğun bakım	***	<0.01

*** istatistiksel olarak anlamlı bulunan faktörler

Hastanede kazanılan Clostridium difficile oranı hastalığın tipine, antibiyotik kullanımına , çevresel kontaminasyona yol açabilecek antibiyotik nedenli kolit veya ishal varlığının olup

olmamasına göre değişebilmektedir .Mc Farland ve arkadaşlarının 399 hastayla yaptıkları çalışmada hastaları %21 'inin Clostridium difficile ile kolonize olduğu ve ishal gelişen hastalarda sefalosporin-penisilinin-gastrointestinal stimulan-dışı yumuşatıcı kullanımının ve layman uygulamasının risk faktörleri olduğu bildirilmiştir (Mc Farland ,1990).

Corrado ve arkadaşları geriatri koğuşunda yatan 49 hastayla yaptıkları çalışmada, hastaların % 69 u antibiyotik kullanmasına rağmen yalnız 2 hastada pozitiflik saptamış ve yaşın hastalık gelişiminde önemi olmadığını iddia etmişlerdir (Corrado,1990).

Andrejak ve arkadaşları pseudomembranöz kolitle ilişkisi ilk gösterilen clindamisin dışında başta ampisilin ve sefalosporinler olmak üzere çoğu antibiyotığın bu tabloya neden olabileceğini, tablonun en sık yoğun bakım ünitelerindeki yaşlı ve debil hastalarda görüldüğünü bildirmektedir (Andrejak,1991).

Murdoch ve arkadaşları hematolojik malignite hastalarında geniş spektrumlu ampirik antibiyotik tedavisinin gastrointestinal floraya etkilerini araştırmış ve hastaların hiç birinin Clostridium difficile ile kolonize olmadığını bildirmiştir (Murdoch,1990).

Thibault ve arkadaşları yaptıkları çalışmada Clostridium difficile nedenli ishal gelişmesinde gastrointestinal cerrahi, neomisin-klindamisin ve metranidazol kullanımının önemli risk faktörleri olduğunu, altı vatan hastalığının derecesinin, antiasid ve immonosupresif ilaç kullanımınınsa ishal gelişimini etkilemediğini bildirmişlerdir (Thibault,1991).

Zimmerman 600 yataklı bir hastanede Clostridium difficile 'nin horizontal geçişini etkileyen 22 risk faktörünü araştırmış ve yalnız klindamisin ve 3. kusak sefalosporin kullanımının predizpoze risk faktörleri olduğunu bildirmiştir (Zimmerman,1991).

Clostridium difficile izolasyonu ülkelere göre farklılıklar göstermektedir.Pensilvanya'da Kofsky ve arkadaşları 18262 hastanın 155 'inde(%0.8) mikroorganizmayı izole ettiklerini bildirirken ; Avustralya'da Wongaurawich ve arkadaşları 269 ishal hastasının 13 'ünde (%4.8) ,114 kontrol hastasının 3 'ünde (%2.6) ; Hindistan'da Niyogi ve arkadaşları 341 ishalli hastanın 38 'inde (%11.1) 172 kontrol hastasının 5 'inde (% 3) İngiltere'de Tabaqchali ve arkadaşları 438 hastanın 17'sinde(%3.9) bu mikroorganizmayı izole ettiklerini bildirmektedir (Kofsky,1991; Wongaurawich,1990; Niyogi,1991; Tabaqchali,1990)

Yapılan alışmaldardan da görüldüğü üzere Clostridium difficile kolonizasyonu ülkeden ülkeye değişmekte ve mikroorganizmanın kolonizasyonu için risk olarak düşünülen faktörler de araştırıcıdan araştırıcıya değişiklik göstermektedir.Ancak genel kanı odur ki antibiyotik kullanımı özellikle beta laktamların kullanımı Clostridium difficile enfeksiyonu için önemli bir risk faktörüdür.Bir diğer önemli risk faktörü yoğun bakıma yatış gibi görülmektedir. Bizim alışmamızda da hastanede uzun süre örneğin dahiliye servisinde yatmak herhangi bir risk oluşturmazken yoğun bakım servisine yatış Clostridium difficile kolonizasyonu için uygun ortam hazırlamaktadır.(p<0.01)

Çalışmamızdan elde ettiğimiz verilere göre ülkemizde de Clostridium difficile enfeksiyonu önemsenmeyecek kadar az değildir(%6.3), kaldı ki bunların önemli bir kısmında (%71.4) bu mikroorganizmaya bağlı ishal gelişmektedir. Bu bilgilerin ışığında artık Türkiye 'deki hastane laboratuvarlarında Clostridium difficile enfeksiyonlarının tanımlanmasının zorunlu olduğunu söyleyebiliriz.

Bu alışma sayesinde Marmara Universitesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına Clostridium difficile için altın standart kabul edilen hücre kültüründe toksin arama yöntemi verleiştirilmiş olup hem kendi hastanemize rutin olarak hizmet

vermeye devam edecek hem de İstanbul 'daki çevre hastaneleri için de referans laboratuvarı olacaktır. Çalışmamızın sonucu olarak ülkemiz için önemli bir sağlık sorunu olarak karşımıza çıkan bu enfeksiyonun büyük şehirlerdeki merkezlerden hiç olmasa birinde hücre kültürü yöntemi ile tanımlanabilir olması gereği ortaya çıkmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Andrejak M., Schmit J.L., Tondriaux A., The clinical significance of antibiotic associated pseudomembranous colitis in the 1990's, *Drug Saf*, 6,339-49 (1991).
2. Bartlett J.G., Antimicrobial agents implicated in *Clostridium difficile* toxin associated diarrhea or colitis, *John Hopkins Med J*,149,6-9 (1981)
3. Bartlett J.G., *Clostridium difficile* : clinical considerations, *Rev Inf Dis*,12,243-51 (1990)
4. Bender B.S., Bennett R., Laughon B.E., Greenough W.B., Is *Clostridium difficile* endemic in chronic care facilities ? *Lancet*, 2:11-13 (1986)
5. Bennet R.G., Laughon B., Mundy M., Bobo L., Evaluation of a latex agglutination test for *Clostridium difficile* in two nursing home outbreaks, *J Clin Microbiol*, 27,889-93 (1989)
6. Bergstein J.M., Kramer A., Wittman D.H., Amian C., Pseudomembranous colitis : how useful is endoscopy? *Surg Endosc*,4,217-9 (1990)
7. Bowman R.A., Riley T.W., Isolation of *Clostridium difficile* from stored specimens and comparative susceptibility of various tissue cell lines to cytotoxin, *FEMS Microbiology letters*,34,31-5, (1986)
8. Bowman R.A., Riley T.V., Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* associated diarrhoea, *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*,7,476-484 (1988)
9. Chang T.W., Laureman M., Bartlett J.G., Cytotoxicity assay in antibiotic associated colitis, *J Infect Dis*,140, 765-770(1979)
10. Corrado O.J., Mascie Taylor B.H., Hall M.J., Prevalance of *Clostridium difficile* on a mixed -function ward for the elderly, *J Infect Dis*,21,287-92 (1990)
11. Doern V.G., Coughlin R.T., Wu L., Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* associated disease : Comparison of a monoclonal antibody enzyme immunoassay for toxins A and B with a monoclonal antibody enzyme immunoassay for toxin A only and two cytotoxicity assays, *J Clin Microbiol*, 30, 2042-46 (1992)

12. Girolami M.C., Hanf P.A., Longhi L., Terasa H., Pratt J., Cheng A., Leterneau M., Thorne G.M., Multicenter evaluation of a new enzyme Immunoassay for detection of Clostridium difficile enterotoxin A, J Clin Microbiol, 30, 1085-88 (1992)
13. George R.H., The carrier state: Clostridium difficile, J Ant Chemot, 18, 47-58 (1986)
14. Gumerlock P., Tang Y., Meyers F., Silva J., Use of the polymerase chain reaction for the specific and direct detection of Clostridium difficile in human feces, Rev Inf Dis, 13, 1053-60 (1990)
15. Heard S.R., O'Farrel S., Holland D., Crook S., Barnett M.J., Tabaqchali S., The epidemiology of Clostridium difficile with the use of typing scheme: nosocomial acquisition and cross infection among immunocompromised patients, J Infec Dis, 153, 159-62 (1986)
16. Iwen P., Booth J., Wodds G., Comparison of media for screening of diarrheic stools for the recovery of Clostridium difficile, J Clin Microbiol, 27, 2105-6 (1989)
17. Kofsky P., Rosen L., Tolmie M., Ufberg D., Clostridium difficile, a common and costly colitis, Dis Colon Rectum, 34, 244-8 (1991)
18. McFarland L., Coyle B., Kremer W., Stamm W., Rectal swab cultures for Clostridium difficile surveillance studies, J Clin Microbiol, 25, 2241-42 (1987)
19. McFarland L.V., Mulligan M.E., Kwok R.Y., Stamm W.E., Nosocomial acquisition of Clostridium difficile, N Eng J Med, 320, 204-10 (1989)
20. McFarland L., Surawicz C., Stamm W., Risk factors for Clostridium difficile carriage and Clostridium difficile associated diarrhea in a cohort of hospitalised patients, J Inf Dis, 162, 678-84 (1990)
21. Murdoch D.A., Gibbs S., Price C.G., Easmon S., Franklin J., Effect of ceftazidime and gentamicin on the orofarengeal and fecal flora of patients with haematological malignancies, 26, 419-28 (1990)
22. Niyogi S.K., Bhattacharya S.K., Dutta P., Naik T.N., Prevalence of Clostridium difficile in hospitalised patients in Calcutta, 9, 16-9 (1991)

23. Tabaqchali S., Wilks M., Epidemiologic aspects of infections caused by *Bacterioides fragilis* and *Clostridium difficile*, *Eur J Microbiol Infect Dis*, 1049-57 (1992)
24. Tabaqchali S., Epidemiologic markers of *Clostridium difficile*, *R inf Dis*, 192-9, Sup 2, 1990)
25. Taylor N.S., Thorne G.M., Bartlett J.G., Comparison of two toxins produced by *Clostridium difficile*, *Infec Immun*, 34, 1036-43 (1981)
26. Thibault A., Miller M.A., Gaese C., Risk factors for the development of *Clostridium difficile* associated diarrhea during a hospital outbreak, 12, 345-8 (1991)
27. Wongawich S., Ramsiri S., Vanasin B., Khowsaphit P., *Clostridium difficile* associated disease in Thailand, 21, 362-72 (1990)
28. Wilson K.H., Kennedy M.J., Fekety F.R., Use of sodium taurocholate to enhance spore recovery on a medium selective for *Clostridium difficile*, *J Clin Microbiol*, 18, 443-6 (1981)
29. Zimmerman R.K., Risk factors for *Clostridium difficile* cytotoxin positive diarrhea after control for horizontal transmission, 12, 96-100 (1991)

EK BOLUM

C.DIFFICILE'E BAĞLI KOLONİZASYON ve DIARE

Adı :
Soyadı :
Yaşı :
Cinsi :
Servis :
Oda no :

Eski cerrahi :
Tip :
Tarih :
Cerrahi :
Tip :
Tarih :

Geliş Tanısı :

Sekonder Tanılar :

Son iki ayda yatış (yer) :
Geliş Tarihi :
Çıkış Tarihi :

Süre : Çıkış :
Başka bir odaya nakli :
Yer : Geliş :
Çıkış :
YBU da kalış süresi :

ANTİBİYOTİK (Son iki ay dahil) :
İsim Doz/Veriliş şekli Başlangıç Bitiş

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.
- 6.

KANSER KEMOTERAPİSİ :

- 1.
- 2.
- 3.

ALTA YATAN HASTALIK :

- 1.
- 2.
- 3.

Gİ çevreyi etkileyen ilaç (Son iki hafta dahil) :

Laksatif : Opiat : Antacid :
H2 bloker : Gİ stimulan : Diğer :

PROSEDÜR : Başlangıç : Bitiş :

1.N/G Tüp :
2.Lavman :

3.Endoskopi :

61 DURUM İZLEMİ

Tarih	Kültür	F	Diare	Abd.agri	Ateş	BK	Toksin
			S				K G
0.....							
1.....							
2.....							
3.....							
4.....							
5.....							
6.....							
7.....							
8.....							
9.....							
10.....							
11.....							
12.....							

Tarih : Gizli kan : Gaita (Direk inc.)

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.
- 6.

Rektoskopi Tarih : Tanı :

Bulgular :

C.difficile e bagli diare Başlangıç : Bitiş :

Aynı odada kültürü (+) hasta :

C.dif.e bagli hastalık için verilen tedavi :

İlac: Doz: Baş. Bit:

Crosstabulation of C:AYSE

C:AYSE, Row	0	1	Row Total
C:AYSE, Col			
0	131	57	188
1	96.3	86.4	93.1
Column Total	136	66	202
Total	67.3	22.7	100.0

C. difficile kolonizasyonunun ampicilin kullanımıyla ilgili

Summary Statistics for Contingency Tables (Page 1)

Chi-square	P.F.	Significance
5.83373	1	8.94524E-3
5.37686	1	0.0204055 with Yates correction

WARNING: Expected values in 1 cells < 5 and 0 cells < 2.

Statistic	Symmetric	With rows dependent	With columns dependent
Lambda	0.05000	0.00000	0.06061
Uncertainty Coeff.	0.03542	0.06213	0.02477
Somer's D	0.15403	0.09960	0.33967
Eta	0.18393	0.18393	0.18393

Summary Statistics for Contingency Tables (Page 2)

Statistic	Value	Significance
Contingency Coeff.	0.161022	
Cramer's V	0.163151	
Conditional Gamma	0.610656	
Pearson R	0.183930	
Fendall's Tau B	0.18393	0.00912
Fendall's Tau C	0.0876385	

Crosstabulation of C:AYSE

C:AYSE, VAR 0	0	1	Row Total
C:AYSE, VAR 1			
0	61	127	188
1	98.4	90.7	93.1
Column Total	62	140	202
Total	30.7	69.3	100.0

C. difficile kolonizasyonunun hastanede kalma süresiyle ilgili

Summary Statistics for Contingency Tables (Page 1)

Chi-square	D.F.	Significance
3.92188	1	0.0476616
2.92256	1	0.0929482 with Yates correction

WARNING: Expected values in 1 cells < 5 and 0 cells < 2.

Statistic	Symmetric	With rows dependent	With columns dependent
Lambda	0.00000	0.00000	0.00000
Uncertainty Coeff.	0.02827	0.04874	0.01990
Somer's D	0.11775	0.07673	0.25304
Eta	0.13934	0.13934	0.13934

Summary Statistics for Contingency Tables (Page 2)

Statistic	Value	Significance
Contingency Coeff.	0.117390	
Cramer's V	0.118208	
Conditional Gamma	0.723913	
Pearson R	0.139339	
Kendall's Tau B	0.13934	0.04822
Kendall's Tau C	0.0652877	

Crosstabulation of CHAYSE

CHAYSE, CHM 0	1	Row Total
CHAYSE, WOP4		
0	9	179
	100.0	92.7
1	0	14
	.0	7.3
Column Total	9	193
Total	4.5	95.5

C. difficile kolonizasyonunun altta yatan hastalıkla ilgisi

Summary Statistics for Contingency Tables (Page 1)

Chi-square	D.F.	Significance
0.701456	1	0.402291
0.0276150	1	0.868017 with Yates correction

WARNING: Expected values in 1 cells < 5 and 1 cells < 2.

Statistic	Symmetric	With rows dependent	With columns dependent
Lambda	0.00000	0.00000	0.00000
Uncertainty Coeff.	0.01510	0.01301	0.01799
Somer's D	0.05768	0.07254	0.04787
Phi	0.05893	0.05893	0.05893

Summary Statistics for Contingency Tables (Page 2)

Statistic	Value	Significance
Contingency Coeff.	0.0116914	
Cramer's V	0.0116922	
Conditional Gamma	1.00000	
Pearson P	0.0589288	
Kendall's Tau B	0.05893	0.40346
Kendall's Tau C	0.0123517	

Crosstabulation of C:AYSE

C:AYSE.VAP1 0	1	Row Total
C:AYSE.VAP4		
0	92	96
1	92.9	93.2
1		
1	7	7
1	7.1	6.8
1		
Column Total	93	103
Total	43.0	51.0

C. difficile kolonizasyonunun cinsle ilgili

Summary Statistics for Contingency Tables (Page 1)

Chi-Square	D.F.	Significance
5.20072E-3	1	0.938770
0.00000	1	1.00000 with Yates correction
Statistic	Symmetric	With rows dependent
Lambda	0.00000	0.00000
Uncertainty Coeff.	0.00003	0.00006
Somer's D	-0.00437	-0.00275
Eta	0.00540	0.00540

Summary Statistics for Contingency Tables (Page 2)

Statistic	Value	Significance
Contingency Coeff.	0.00000	
Cramer's V	0.00000	
Conditional Gamma	0-.0212766	
Pearson R	-5.40479E-3	
Tendall's Tau B	-0.00540	0.93892
Tendall's Tau C	-2.74483E-3	

Crosstabulation of C:AYSE

	0	1	Row Total
C:AYSE, 0mi			
C:AYSE, 0AP4			
0	147	41	188
1	93.6	91.1	93.1
1			
1			
1	10	4	14
1	6.4	8.9	6.9
Column Total	157	45	202
Total	77.7	22.3	100.0

C. difficile kolonizasyonunun aminoglikozid kullanımıyla ilgili

Summary Statistics for Contingency Tables (Page 1)

Chi-square	D.F.	Significance
0.341186	1	0.557423
0.6644073	1	0.799661 with Yates correction

WARNING: Expected values in 1 cells < 5 and 0 cells < 2.

Statistic	Symmetric	With rows dependent	With columns dependent
Lambda	0.00000	0.00000	0.00000
Uncertainty Coeff.	0.00206	0.00320	0.00152
Somer's D	0.03671	0.02519	0.06763
Ta	0.04128	0.04128	0.04128

Summary Statistics for Contingency Tables (Page 2)

Statistic	Value	Significance
Contingency Coeff.	0.0178535	
Cramer's U	0.0178563	
Conditional Gamma	0.178357	
Pearson R	0.0412782	
Sokal's Tau B	0.04128	0.55840
Sokal's Tau C	0.0174493	

Crosstabulation of CIAYSE

CIAYSE, "AFI 0	1	Row Total
CIAYSE, "AFI 1		
0	117	71
1	92.9	93.4
Total		188
Column Total	126	76
	62.4	37.6
		100.0

C. difficile kolonizasyonunun H₂ bloker kullanımıyla ilgisi

Summary Statistics for Contingency Tables (Page 1)

Statistic	Chi-Square	D.F.	Significance
Lambda	0.0232705	1	0.878497
Uncertainty Coeff.	0.00000	1	1.00000 with Yates correction
Somer's D			
Eta			
Statistic		Symmetric	With rows dependent With columns dependent
Lambda		0.00000	0.00000 0.00000
Uncertainty Coeff.		0.00013	0.00023 0.00003
Somer's D		-0.00085	-0.00564 -0.02052
Eta		0.01076	0.01076 0.01076

Summary Statistics for Contingency Tables (Page 2)

Statistic	Value	Significance
Contingency Coeff.	0.00000	
Cramer's V	0.00000	
Conditional Gamma	0.0441176	
Pearson P	0.0107562	
Kendall's Tau B	-0.01076	0.87879
Kendall's Tau C	-5.29360E-3	

Crosstabulation of C1AYSE

C1AYSE, Lak	0	1	Row Total
C1AYSE, UAP4			
0	175	13	188
	92.6	100.0	93.1
1	14	0	14
	7.4	.0	6.9
Column Total	189	13	202
	93.6	6.4	100.0

C. difficile kolonizasyonunun laksatif kullanımıyla ilgili

Summary Statistics for Contingency Tables (Page 1)

Chi-square	D.F.	Significance
1.02467	1	0.309064
0.204942	1	0.650761 with Yates correction

WARNING: Expected values in 1 cells < 5 and 1 cells < 2.

Statistic	Symmetric	With rows dependent	With columns dependent
Lambda	0.00000	0.00000	0.00000
Uncertainty Coeff.	0.01950	0.01900	0.02003
Somer's D	-0.07153	-0.07407	-0.06915
Eta	0.07157	0.07157	0.07157

Summary Statistics for Contingency Tables (Page 2)

Statistic	Value	Significance
Contingency Coeff.	0.0318361	
Cramer's V	0.0318522	
Conditional Gamma	-1.00000	
Pearson R	0-.0715692	
Pendall's Tau B	-0.07157	0.31026
Pendall's Tau C	0-.0178414	

Crosstabulation of CLAYSE

CLAYSE.001 0	1	Row Total
CLAYSE.004		
0	172 16	188 93.1
1	93.5 88.9	
Column Total	184 18	202 100.0

C.difficile kolonizasyonunun antiasid kullanımıyla ilgili

Summary Statistics for Contingency Tables (Page 1)

Chi-Square	D.F.	Significance
0.535380	1	0.464354
0.0602720	1	0.806067 with Yates correction

WARNING: Expected values in 1 cells < 5 and 1 cells < 2.

Statistic	Symmetric	With rows dependent	With columns dependent
Lambda	0.00000	0.00000	0.00000
Uncertainty Coeff.	0.00418	0.00458	0.00384
Somer's D	0.05114	0.04589	0.05775
Phi	0.05148	0.05148	0.05148

Summary Statistics for Contingency Tables (Page 2)

Statistic	Value	Significance
Contingency Coeff.	0.0172710	
Cramer's V	0.0172736	
Conditional Gamma	0.283582	
Pearson P	0.0514820	
Lendall's Tau B	0.05148	0.46516
Lendall's Tau C	0.0149005	

Crosstabulation of C:AYSE

C:AYSE, Kem	0	1	Row Total
C:AYSE, UAP4			
0	159	29	188
	92.4	96.7	93.1
1	13	1	14
	7.6	3.3	6.9
Column Total	172	30	202
	85.1	14.9	100.0

C. difficile kolonizasyonunun kemoterapi uygulanmasıyla ilgili

Summary Statistics for Contingency Tables (Page 1)

Chi-square	D.F.	Significance
0.706852	1	0.400431
0.203605	1	0.651827 with Yates correction

WARNING: Expected values in 1 cells < 5 and 0 cells < 2.

Statistic	Symmetric	With rows dependent	With columns dependent
Lambda	0.00000	0.00000	0.00000
Uncertainty Coeff.	0.00617	0.00823	0.00494
Somer's D	-0.05595	-0.04225	-0.08283
Eta	0.05915	0.05915	0.05915

Summary Statistics for Contingency Tables (Page 2)

Statistic	Value	Significance
Contingency Coeff.	0.0317321	
Cramer's V	0.0317481	
Conditional Gamma	0-.406716	
Pearson P	0-.0591546	
Kendall's Tau B	-0.05915	0.40166
Kendall's Tau C	0-.0213705	

Crosstabulation of CIAYSE

CIAYSE.Lab	0	1	Row Total
CIAYSE.UAP4			
0	175	13	188
	92.6	100.0	93.1
1	14	0	14
	7.4	.0	6.9
Column Total	189	13	202
	93.6	6.4	100.0

C. difficile kolonizasyonunun laksatif kullanımıyla ilgisi

Summary Statistics for Contingency Tables (Page 1)

Chi-square	D.F.	Significance
1.03467	1	0.309064
0.204942	1	0.650761 with Yates correction

WARNING: Expected values in 1 cells < 5 and 1 cells < 2.

Statistic	Symmetric	With rows dependent	With columns dependent
Lambda	0.00000	0.00000	0.00000
Uncertainty Coeff.	0.01950	0.01900	0.02003
Somer's D	-0.07153	-0.07407	-0.06915
Eta	0.07157	0.07157	0.07157

Summary Statistics for Contingency Tables (Page 2)

Statistic	Value	Significance
Contingency Coeff.	0.0318361	
Cramer's V	0.0318522	
Conditional Gamma	-1.00000	
Fleissman R	0.0715692	
Lendall's Tau B	-0.07157	0.31026
Lendall's Tau C	0.0178414	

Crosstabulation of C:AYSE

C:AYSE, N=11	0	1	Row Total
C:AYSE, N=11	163	25	188
	92.6	96.2	93.1
0	13	1	14
1	7.4	3.8	6.9
Column Total	176	26	202
	87.1	12.9	100.0

C. difficile kolonizasyonunun diger antibiyotiklerin kullanımıyla ilgisi

Summary Statistics for Contingency Tables (Page 1)

Chi-square	D.F.	Significance
0.440159	1	0.507046
0.0624078	1	0.802730 with Yates correction

WARNING: Expected values in 1 cells < 5 and 1 cells < 2.

Statistic	Symmetric	With rows dependent	With columns dependent
Lambda	0.00000	0.00000	0.00000
Uncertainty Coeff.	0.00396	0.00499	0.00328
Somer's D	-0.04495	-0.03540	-0.06155
Eta	0.04668	0.04668	0.04668

Summary Statistics for Contingency Tables (Page 2)

Statistic	Value	Significance
Contingency Coeff.	0.0175743	
Cramer's V	0.0175770	
Conditional Gamma	0-.331967	
Pearson R	0-.0466798	
Kendall's Tau B	-0.04668	0.50810
Kendall's Tau C	0-.0158808	

Crosstabulation of C:AYSE

C:AYSE, Qui	0	1	Row Total
C:AYSE, VAR4			
0	157	31	188
	94.6	86.1	93.1
1	9	5	14
	5.4	13.9	6.9
Column Total	166	36	202
	82.2	17.8	100.0

C. difficile kolonizasyonunun kinolon kullanımıyla ilgisi

Summary Statistics for Contingency Tables (Page 1)

Chi-square	D.F.	Significance
3.28818	1	0.0697802
2.10652	1	0.146673 with Yates correction

WARNING: Expected values in 1 cells < 5 and 0 cells < 2.

Statistic	Symmetric	With rows dependent	With columns dependent
Lambda	0.00000	0.00000	0.00000
Uncertainty Coeff.	0.01899	0.02716	0.01460
Somer's D	0.11757	0.08467	0.19225
Ita	0.12759	0.12759	0.12759

Summary Statistics for Contingency Tables (Page 2)

Statistic	Value	Significance
Contingency Coeff.	0.101591	
Cramer's U	0.102119	
Conditional Gamma	0.475564	
Pearson R	0.127586	
Kendall's Tau B	0.12759	0.07048
Kendall's Tau C	0.0496030	

Crosstabulation of C:AYSE

C:AYSE.Qui 0	1	Row Total
C:AYSE.VAF4		
0	157	31
1	34.6	86.1
Column Total	166	36
	82.2	17.8
		100.0

C. difficile kolonizasyonunun kinolon kullanımıyla ilgisi

Summary Statistics for Contingency Tables (Page 1)

Chi-square	D.F.	Significance
3.28818	1	0.0697802
2.10652	1	0.146673 with Yates correction

WARNING: Expected values in 1 cells < 5 and 0 cells < 2.

Statistic	Symmetric	With rows dependent	With columns dependent
Lambda	0.00000	0.00000	0.00000
Uncertainty Coeff.	0.01899	0.02716	0.01460
Somer's D	0.11757	0.08467	0.19225
Eta	0.12759	0.12759	0.12759

Summary Statistics for Contingency Tables (Page 2)

Statistic	Value	Significance
Contingency Coeff.	0.101531	
Cramer's V	0.102119	
Conditional Gamma	0.475564	
Pearson P	0.127586	
Kendall's Tau B	0.12759	0.07048
Kendall's Tau C	0.0496030	

Crosstabulation of C:AYSE

C:AYSE, Van	0	1	Row Total
C:AYSE, YOP4			
0	176	12	188
	94.1	6.9	100.0
1	11	3	14
	5.9	2.0	7.9
Column Total	187	15	202
	92.6	7.4	100.0

C. difficile kolonizasyonunun vankomisin kullanımıyla ilgisi

Summary Statistics for Contingency Tables (Page 1)

Chi-square	D.F.	Significance
4.29065	1	0.0383225
2.28102	1	0.12811 with Yates correction

WARNING: Expected values in 1 cells < 5 and 1 cells < 2.

Statistic	Symmetric	With rows dependent	With columns dependent
Lambda	0.00000	0.00000	0.00000
Uncertainty Coeff.	0.02935	0.03003	0.02865
Somer's D	0.14567	0.14118	0.15046
Eta	0.14574	0.14574	0.14574

Summary Statistics for Contingency Tables (Page 2)

Statistic	Value	Significance
Contingency Coeff.	0.107936	
Cramer's V	0.108571	
Conditional Gamma	0.600000	
Pearson R	0.145742	
Kendall's Tau B	0.14574	0.03880
Kendall's Tau C	0.0388197	

Cross-tabulation of C:AYSE

C:AYSE. Self	0	1	Pow
C:AYSE. VAR4			Total
0	133	49	188
1	96.5	84.5	93.1
1	5	9	14
1	3.5	15.5	6.9
Column Total	144	58	202
Total	71.3	28.7	100.0

C. difficile kolonizasyonunun sefalosporin kullanımıyla ilgili

Summary Statistics for Contingency Tables (Page 1)

Chi-square	D.F.	Significance
3.2374	1	2.29186E-3
7.52614	1	6.08101E-3 with Yates correction

WARNING: Expected values in 1 cells < 5 and 0 cells < 2.

Statistic	Symmetric	With rows dependent	With columns dependent
Lambda	0.05556	0.00000	0.06897
Uncertainty Coeff.	0.04793	0.08112	0.03407
Somer's d	0.18318	0.12045	0.38222
Eta	0.21457	0.21457	0.21457

Summary Statistics for Contingency Tables (Page 2)

Statistic	Value	Significance
Contingency Coeff.	0.189525	
Cramer's V	0.193024	
Conditional Gamma	0.672460	
Pearson P	0.214565	
Kendall's Tau B	0.21457	0.00235
Kendall's Tau C	0.0986178	

Crosstabulation of CIAYSE

CIAYSE, YOGU	0	1	Row Total
CIAYSE, YOGU	0	1	
0	179	9	188
1	94.7	69.2	93.1
1			
1			
1			
1			
1			
Column Total	189	13	202
Total	93.6	6.4	100.0

C. difficile kolonizasyonunun yogun bakima yatisla ilgisi

Summary Statistics for Contingency Tables (Page 1)

Chi-square	D.F.	Significance
------------	------	--------------

12.2408 1 4.67566E-4
8.60952 1 3.34410E-3 with Yates correction

WARNING: Expected values in 1 cells < 5 and 1 cells < 2.

Statistic	Symmetric	With rows dependent	With columns dependent
Lambda	0.00000	0.00000	0.00000
Uncertainty Coeff.	0.07519	0.07324	0.07724
Somer's D	0.24602	0.25478	0.23784
Eta	0.24617	0.24617	0.24617

Summary Statistics for Contingency Tables (Page 2)

Statistic	Value	Significance
-----------	-------	--------------

Contingency Coeff. 0.202186
Cramer's V 0.206449
Conditional Gamma 0.776675
Pearson F 0.246166
Lendall's Tau B 0.24617
Lendall's Tau C 0.0613665

Crosstabulation of C:AYSE

C:AYSE, WAFI 0	1	Row Total
C:AYSE, WAFI 1	145	43
Total	96.7	82.7
188		
93.1		
14		
6.9		
Column Total	150	52
	74.3	25.7
		100.0

C. difficile kolonizasyonunun tibbi girisimlerle ilgili

Summary Statistics for Contingency Tables (Page 1)

Chi-square	D.F.	Significance
11.6303	1	6.28285E-4
9.63417	1	1.92033E-3 with Yates correction

WARNING: Expected values in 1 cells < 5 and 0 cells < 2.

Statistic	Symmetric	With rows dependent	With columns dependent
Lambda	0.06061	0.00000	0.07692
Uncertainty Coeff.	0.06012	0.09814	0.04333
Somer's D	0.20897	0.13974	0.41413
Eta	0.24057	0.24057	0.24057

Summary Statistics for Contingency Tables (Page 2)

Statistic	Value	Significance
Contingency Coeff.	0.213255	
Cramer's V	0.218276	
Conditional Gamma	0.717105	
Pearson F	0.240567	
Lendall's Tau B	0.24057	0.00065
Lendall's Tau C	0.106852	

BİBLİYOGRAFİK BİLGİ FORMU

1- Proje No: TAD-0766	2- Rapor Tarihi: 22/6/1993
3- Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri: 1/4/1992-1/4/1993	
4- Projenin Adı:	
HASTANEDE KAZANILAN CLOSTRIDIUM DIFFICILE KOLONİZASYONU VE BUNA BAĞLI HASTALIK İNCELEŞİMİNİN ARAŞTIRILMASI	
5- Proje Yürütücüsü ve Yardımcı Araştırmacılar: Doç. Dr. Giber Söyletir, Uzm. Mlk. Dr. Aysegül Eskitürk, Yük. Hem. Günay Kılıç Yar. Doç. Dr. Volkan Korten, Prof. Dr. Nurdan Tözün	
6- Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi: Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji ve İç Hastalıkları Ana Bilim dalları Altunizade, İstanbul, 81190	
7- Destekleyen Kuruluş(ların) Adı ve Adresi: TUBİTAK ,Atatürk Bulvarı,no:221 Kavaklıdere, Ankara, 06100	
8- Öz (Abstract): Clostridium difficile asemptomatik taşıyıcılıktan pseudomembranoz enterokolite dek değişebilen klinik tablo oluşturmakta ve antibiyotige bağlı ishallerin % 15-25 'inden, pseudomembranoz enterokolitlerin %99'undan sorumlu tutulmaktadır. Bu çalışma hastaneye yattıkları süre içinde Clostridium difficile ile kolonize olan hasta sayısını bu kolonizasyon için gerekli risk faktörlerinin neler olduğunu ve bu hastalarda ishal gelişme oranını saptamak amacıyla yapılmıştır. Çalışma süresince 346 hastadan, ilki hastaneye yattıkları ilk 24 saat içinde olmak üzere ilk iki hafta haftada iki, daha sonra haftada bir olacak şekilde toplanan 1154 rektal sürüntü örneği alınmış ve Clostridium difficile izolasyonu için CCFA besiyerine ekilerek 48 saat anaerob ortamda inkübe edilmiştir. 114 hasta hastanede 48 saatten az yattıkları için kolonizasyon için gerekli risk faktörlerinin istatistiksel değerlendirilmesi 202 hasta ile yapılmıştır. 202 hastanın 45'inde (%22.3) hastane enfeksiyonu olarak ishal gelişmiştir. Yaş, cins, antiasid ve laksatif kullanımı dışında taraman tüm faktörlerin ishal gelişimi için risk oluşturduğu gözlenmiştir. 202 hastanın 14'ü (%6.3) hastanede yattıkları süre içinde Clostridium difficile ile kolonize olmuş ve bunların 10'unda (%71.4) bu mikroorganizmanın toksinine bağlı ishal gelişmiştir. 3 hastada endoskopi bulgusu olarak pseudomembranoz enterokolit gösterilmiştir. Clostridium difficile kolonizasyonu için risk faktörleri olarak ampicilin, sefalosporin gibi beta laktamların kullanılması; tıbbi girişim uygulanması ve yoğun bakım yatış belirlenmiştir.	
Anahtar Kelimeler: Pseudomembranoz kolit, hastane enfeksiyonları, C. difficile, Antibiyotiklere bağlı diyare.	
9- Proje ile ilgili Yayın/Tebliğlerle İlgili Bilgiler Çalışma sonuçları 7-9 Ekim 1993 tarihleri arasında Yapılacak International Federation of Infection control (IFIC) ve Turkish Microbiological Society tarafından düzenlenen 'Infection control: New Perspectives -Joint Meeting -İstanbul-Türkey 'de tebliğ edilecektir.	
10- Bilim Dalı: Doçentlik B. Dalı Kodu: Uzmanlık Alanı Kodu: ISIC Kodu:	
11- Dağıtım (*): ☐ Sınırlı ☒ Sınırsız	
12- Raporun Gizlilik Durumu: ☐ Gizli ☒ Gizli Değil	

*) Projenizin Sonuç Raporunun ulaştırılmasını istediğiniz kurum ve kuruluşları ayrıca belirtiniz