

Uspješnost liječenja transplantacijom fekalne mikrobiote kod pacijenata s infekcijom uzrokovanom *Clostridium difficile*

Filakovac, Dorjana

Undergraduate thesis / Završni rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka, Faculty of Health Studies / Sveučilište u Rijeci, Fakultet zdravstvenih studija u Rijeci**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:639870>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-17**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Health Studies - FHSRI Repository](#)



SVEUČILIŠTE U RIJECI
FAKULTET ZDRAVSTVENIH STUDIJA
PREDDIPLOMSKI STRUČNI STUDIJ SESTRINSTVO

Dorjana Filakovac

**USPJEŠNOST LIJEČENJA TRANSPLANTACIJOM FEKALNE
MIKROBIOTE KOD PACIJENATA S INFEKCIJOM UZROKOVANOM
*CLOSTRIDIUM DIFFICILE***

Završni rad

Rijeka, 2022.

UNIVERSITY OF RIJEKA
FACULTY OF HEALTH STUDIES
UNDERGRADUATE UNIVERSITY STUDY OF NURSING

Dorjana Filakovac

**EFFECTIVENESS OF FECAL MICROBIOTE TRANSPLANTATION
TREATMENT IN PATIENTS WITH *CLOSTRIDIUM DIFFICILE*
INFECTION**

Final work

Rijeka, 2022.

Mentor rada:

Završni rad obranjen je dana _____ na Fakultetu zdravstvenih studija u Rijeci,
pred povjerenstvom u sastavu:

- 1.
- 2.
- 3.

Izvješće o provedenoj provjeri izvornosti studentskog rada

Opći podaci o studentu:

| | |
|-------------------------------|--|
| Sastavnica | |
| Studij | |
| Vrsta studentskog rada | |
| Ime i prezime studenta | |
| JMBAG | |

Podatci o radu studenta:

| | |
|--------------------------------------|--|
| Naslov rada | |
| Ime i prezime mentora | |
| Datum predaje rada | |
| Identifikacijski br. podneska | |
| Datum provjere rada | |
| Ime datoteke | |
| Veličina datoteke | |
| Broj znakova | |
| Broj riječi | |
| Broj stranica | |

Podudarnost studentskog rada:

| | |
|------------------------|--|
| Podudarnost (%) | |
|------------------------|--|

Izjava mentora o izvornosti studentskog rada

| | |
|---|--------------------------|
| Mišljenje mentora | |
| Datum izdavanja mišljenja | |
| Rad zadovoljava uvjete izvornosti | <input type="checkbox"/> |
| Rad ne zadovoljava uvjete izvornosti | <input type="checkbox"/> |
| Obrazloženje mentora (po potrebi dodati zasebno) | |

Datum

Potpis mentora

Odobrenje nacрта završnog rada Povjerenstva za završne i diplomske radove



Sveučilište u Rijeci • Fakultet zdravstvenih studija
University of Rijeka • Faculty of Health Studies
Viktora Cara Emina 5 • 51000 Rijeka • CROATIA
Phone: +385 51 688 266
www.fzsri.uniri.hr

Rijeka, 18. 5. 2022.

Odobrenje nacрта završnog rada

Povjerenstvo za završne i diplomske radove Fakulteta zdravstvenih studija Sveučilišta u Rijeci
odobrava nacrt završnog rada:

USPJEŠNOST LIJEČENJA TRANSPLANTACIJOM FEKALNE
MIKROBIOTE KOD PACIJENATA S INFEKCIJOM UZROKOVANOM
CLOSTRIDIUM DIFFICILE: rad s istraživanjem
EFFECTIVENESS OF FECAL MICROBIOTE TRANSPLANTATION TREATMENT IN
PATIENTS WITH CLOSTRIDIUM DIFFICILE INFECTION: research

Student: Dorjana Filakovac

Mentor: Katarina Karlović, mag.med.techn.

Sveučilište u Rijeci, Fakultet zdravstvenih studija

Preddiplomski stručni Sestrinstvo – izvanredni

Povjerenstvo za završne i diplomske radove

Predsjednik Povjerenstva

Pred. Helena Štrucelj, dipl. psiholog – prof.

SADRŽAJ

| | |
|---|----|
| SADRŽAJ | 6 |
| SAŽETAK | 7 |
| ABSTRACT | 8 |
| 1. UVOD | 9 |
| 2. MIKROBIOTA GASTROINTESTINALNOG TRAKTA | 10 |
| 2.1. Razvoj mikrobiote | 11 |
| 2.2. Rasprostranjenost mikrobiote | 12 |
| 2.3. Uloga mikrobiote u obrani organizma | 13 |
| 2.4. Uloga mikrobiote u održavanju zdravlja organizma | 14 |
| 2.5. Mikrobiota i infekcija <i>C. difficile</i> | 15 |
| 3. TRANSPLANTACIJA FEKALNE MIKROBIOTE | 18 |
| 3.1. Probir donora i uzimanje transplantata | 19 |
| 3.2. Priprema stolice i uloga medicinske sestre pri provođenju transplantacije fekalne mikrobiote | 20 |
| 4. CILJ ISTRAŽIVANJA | 24 |
| 5. METODE ISTRAŽIVANJA | 25 |
| 6. REZULTATI | 26 |
| 7. RASPRAVA | 31 |
| 8. ZAKLJUČAK | 33 |
| 9. LITERATURA | 34 |
| 10. PRILOZI | 41 |
| 11. ŽIVOTOPIS | 42 |

SAŽETAK

UVOD: *Clostridium difficile* je oportunistička bakterija koja u stanjima disbioze, koja može biti povezana s raznim sistemskim bolestima, starijom životnom dobi i primjenom antibiotika, uzrokuje infekciju. Transplantacija fekalne mikrobiote podrazumijeva infuziju stolice od zdrave osobe pacijentu s crijevnom disbiozom, a mehanizam djelovanja podrazumijeva uspostavljanje nove zajednice crijevne mikrobiote kako bi se obnovila normalna funkcija crijeva.

CILJ: Cilj istraživanja bio je prikazati broj pacijenata kod kojih je provedena transplantacija fekalne mikrobiote na Zavodu za gastroenterologiju Klinike za internu medicinu Kliničkog bolničkog centra Rijeka, kao metoda liječenja infekcije uzrokovane *Clostridium difficile*, u vremenskom periodu od 10.05.2017. do 31.12.2021. godine. Sekundarni ciljevi istraživanja bili su prikazati uspješnost liječenja transplantacijom fekalne mikrobiote s obzirom na spol, dob te na prisutne komorbiditete.

METODE: Podaci su prikupljeni iz medicinske dokumentacije putem bolničkog informatičkog sustava, a statistička obrada provedena je programom Statistica (Version 13.5.0.17, 1984-2018 TIBCO Software Inc). Razlike u frekvencijama uspoređene su pomoću Fischer egzaktnog testa na razini statističke značajnosti 0,05 (5%), a razlika u dobi između muškaraca i žena ispitana je pomoću neparametrijskog testa za nezavisne uzorke Mann-Whitney U Testa na razini statističke značajnosti 0,05 (5%).

REZULTATI: Unutar navedenog vremenskog razdoblja u KBC-u Rijeka provedena je ukupno 41 transplantacija fekalne mikrobiote u svrhu liječenja infekcije uzrokovane *C.difficile*, pri čemu je sudjelovalo 26 pacijenata. Ishodi provedenih transplantacija fekalne mikrobiote s poznatim ishodom podijeljeni su na izlječenje (39,02%, n=16), ponavljanje transplantacije (36,59%, n=15) i subtotalnu kolektomiju (4,88%, n=3). Transplantacija fekalne mikrobiote je u neznatno većem postotku (90,00%) bila uspješnija kod ženskog spola, u usporedbi s muškim spolom (87,50%). Pacijenti obje dobne skupine su u podjednakom postotku (88,89%) doživjeli izlječenje, a izlječenje je postignuto kod 100% pacijenata bez komorbiditeta i 84,62% pacijenata s jednim ili više komorbiditeta.

ZAKLJUČAK: transplantacija fekalne mikrobiote uspješna je metoda liječenja infekcije *C.difficile*, bez obzira na spol, dob i komorbiditete pacijenata.

Ključne riječi: *Clostridium difficile*, crijevna mikrobiota, fekalna mikrobiota, transplantacija,

ABSTRACT

INTRODUCTION: *Clostridium difficile* is an opportunistic bacterium that causes infection in conditions of dysbiosis, which can be associated with various systemic diseases, older age, and the use of antibiotics. Fecal microbiota transplantation involves the infusion of stool from a healthy person to a patient with intestinal dysbiosis, and the mechanism of action involves establishing a new community of intestinal microbiota to restore normal bowel function.

OBJECTIVE: The aim of the study was to show the number of patients who underwent fecal microbiota transplantation at the Department of Gastroenterology, Clinic of Internal Medicine, Clinical Hospital Center Rijeka, as a method of treating infection caused by *Clostridium difficile*, in the period from 10.05.2017. to 31.12.2021. years. The secondary objectives of the study were to demonstrate the success of fecal microbiota transplantation treatment with respect to sex, age, and comorbidities present.

METHODS: Data were collected from medical records via the hospital information system, and statistical processing was performed with the Statistica program (Version 13.5.0.17, 1984-2018 TIBCO Software Inc). Differences in frequencies were compared using Fischer's exact test at the level of statistical significance 0.05 (5%), and the difference in age between men and women was examined using the nonparametric test for independent samples Mann-Whitney U Test at the level of statistical significance 0.05 5%).

RESULTS: Within the stated time, a total of 41 fecal microbiota transplants were performed at the Rijeka Clinical Hospital for the purpose of treating *C. difficile* infection, in which 26 patients participated. Outcomes of fecal microbiota transplants with known outcome were divided into cure (39.02%, n = 16), transplant recurrence (36.59%, n = 15), and subtotal colectomy (4.88%, n = 3). Fecal microbiota transplantation was slightly more successful (90.00%) in females than in males (87.50%). Patients of both age groups experienced cure in the same percentage (88.89%), and cure was achieved in 100% of patients without comorbidity and 84.62% of patients with one or more comorbidities.

CONCLUSION: Fecal microbiota transplantation is a successful method of treating *C.difficile* infection, regardless of the sex, age and comorbidities of patients.

Keywords: *Clostridium difficile*, fecal microbiota, intestinal microbiota, transplantation,

1. UVOD

Ljudski gastrointestinalni trakt sadrži veliku količinu različitih mikroorganizama koji se zajednički nazivaju crijevna mikrobiota, a glavna im je uloga probava hranjivih tvari, sinteza vitamina, kiselina i biotina te razgrađivanje žučne kiseline i kratkolančanih masnih kiselina. Kratkolančane masne kiseline predstavljaju glavni izvor energije za gradivne stanice debelog crijeva, a uz to imaju i imunomodulatorni učinak jer smanjuju crijevnu propusnost te reguliraju različite procese poput apsorpcije vode i elektrolita. Dakle, crijevna mikrobiota se direktno može povezati s imunitetom cijelog ljudskog organizma (1,2).

Prema ulozi u domaćinu, crijevna mikrobiota se može podijeliti u tri kategorije. Prva kategorija sadrži fiziološke bakterije koje čine dominantnu mikrobiotu, simbiotske su s domaćinom i igraju ključnu ulogu u prehrani i imunološkoj regulaciji. Druga kategorija sadrži uvjetne patogene koji nastanjuju domaćina, a to su uglavnom nedominantne bakterije koje su bezopasne kada se održava crijevna mikroekološka ravnoteža. Treća kategorija sadrži uglavnom patogene, a kada je mikroekologija u ravnoteži, dugotrajna kolonizacija patogena je rijetka te je broj ovih organizama mali i nepatogen. Ako promjene u enteralnom i vanjskom okruženju dovedu do opadanja crijevne dominantne mikrobiote, doći će do neravnoteže crijevne mikrobiote s porastom patogena do točke izazivanja bolesti (2, 3).

Clostridium difficile je anaerobna bakterija široko rasprostranjena u crijevnom traktu ljudi i životinja te u okolišu. U posljednjem desetljeću, učestalost i ozbiljnost infekcija *C. difficile* se globalno povećava i postaje jedna od najčešćih infekcija gastrointestinalnog trakta. Prijenos ovog patogena događa se fekalno-oralnim putem, a najvažniji čimbenici rizika su antibiotska terapija, starija životna dob i boravak u bolnici ili domu za starije (4). Transplantacija fekalne mikrobiote je metoda liječenja koja podrazumijeva direktno mijenjanje crijevne mikrobiote pacijenta, s ciljem uspostavljanja fiziološkog sadržaja mikroorganizama i postizanja terapijskog djelovanja. Povijest navedene metode seže do 4. stoljeća, a učestalo se koristi od 2013. godine, kada ju je Uprava za hranu i lijekove Sjedinjenih Američkih Država odobrila za liječenje rekurentne i refraktorne infekcije *C. difficile* (5).

U ovom završnom radu opisati će se fiziološka mikrobiota gastrointestinalnog trakta, patofiziologija infekcije *C. difficile*, komponente liječenja transplantacijom fekalne mikrobiote i značajna uloga medicinske sestre pri istom te će se prikazati rezultati provedenog istraživanja o uspješnosti liječenja transplantacijom fekalne mikrobiote i eventualni čimbenici o kojima ovisi uspješnost iste.

2. MIKROBIOTA GASTROINTESTINALNOG TRAKTA

Mikrobiota gastrointestinalnog trakta ili crijevna mikrobiota podrazumijeva mnogobrojne bakterije koje su stalni stanovnici u ljudskom organizmu, s najvećim koncentracijama u debelom crijevu. Prvi kontakt s bakterijama ljudski organizam doživljava pri porodu, a crijevna mikrobiota je podložna trajnim promjenama tijekom života. Individualni uzorak mikrobiote vrlo je varijabilan i različiti okolišni uvjeti, npr. prehrana, izloženost antigenima, infekcije, lijekovi, kao i genetika, dob ili higijenski čimbenici, snažno utječu na bakterijsku zajednicu kod svake osobe. Interakcija između domaćina i mikrobiote određuje ishod zdravlja ili bolesti, a imunološki sustav crijeva stalno je pod izazovom da razlikuje komenzalne neinvazivne bakterije i potencijalne patogene (6).

Bakterije su sveprisutne u okolišu, zraku, tlu, vodi, a u gastrointestinalnom traktu ljudi nalazi se oko 100 trilijuna bakterija, i dobrih i loših. Količina bakterija koje nastanjuju gastrointestinalni trakt ljudi premašuje 10^{14} , odnosno u ljudskom tijelu se nalazi otprilike ~10 puta više bakterijskih stanica od ostalih stanica organizma i 100 puta veća koncentracija mikrobioma od genoma (7). No, autori procjene iz 2016. godine sugeriraju da je omjer ljudskih i bakterijskih stanica zapravo bliži 1:1 (8).

Bakterije se nerijetko dijele prema kokoidnim, štapićastim, spiralnim ili pupajućim oblicima, a prema njihovom metabolizmu i toleranciji na kisik, grupiraju se u aerobne, anaerobne ili mikroaerofilne organizme. Bakterije se klasificiraju i prema karakteristikama staničnih membrana i korištenju energije, npr. heterotrofne, fototrofne ili litotrofne (9). Povezani podaci iz *MetaHit-a* i projekta *Human Microbiome* pružili su do sada najsveobuhvatniji prikaz crijevne mikrobiote kod ljudi (10,11) te definirali 2 172 različite vrste bakterija u ljudskom organizmu i iste klasificirali u 12 različitih tipova, od čega se njih 93,5% ubraja u tipove *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Actinobacteria* i *Bacteroidetes*. U ljudskom organizmu, 386 izoliranih vrsta bakterija su strogo anaerobne pa se nalaze na područjima sluznice kao što su usta i gastrointestinalni trakt (10). U opsežnom katalogu funkcionalnog kapaciteta mikrobioma ljudskog crijeva, identificirano je 9 879 896 gena i zaključeno da se sastav mikrobioma razlikuje u populaciji ovisno o geografskom položaju, što ukazuje na to da različiti čimbenici okoliša, životni stil i prehrambene navike uvelike mogu utjecati na isti. Također, autori su zaključili da se sastav mikrobioma djelomično nasljeđuje i genetski (11).

2.1. Razvoj mikrobiote

Novorođenče dolazi u kontakt s mikroorganizmima pri samom rođenju, a tijekom prvih mjeseci života dolazi do intenzivnog razvoja bakterijskih zajednica u cijelom organizmu. Međutim, iako se odmah pri porodu mikroorganizmi počinju nastanjivati u oralnoj i nazofaringealnoj membrani, koži i crijevima djeteta, nema značajnih razlika u mikrobiomu navedenih staništa što se značajno razlikuje od raznovrsnog mikrobioma u navedenim različitim staništima majke (12). Način poroda također ima značajan utjecaj na primarno nastanjivanje bakterija te bebe rođene vaginalnim putem razvijaju mikrobiotu koja je slična vaginalnoj flori majke, dok bebe rođene carskim rezom razvijaju mikrobiotu koja je slična onoj na koži majke (13,14). Fekalna mikrobiota se također razlikuje ovisno o načinu poroda te kod novorođenčadi rođene vaginalnim putem fekalna mikrobiota nalikuje fekalnoj mikrobioti majke u 72% slučajeva, a navedena sličnost pada na samo 41% kod novorođenčadi rođene carskim rezom (15).

Već tijekom prve godine života, gastrointestinalni trakt djeteta se kolonizira mnogim raznolikim mikroorganizmima zbog promjena u okolišnim čimbenicima i prehrambenim navikama, a otprilike nakon 2. godine života sastav, raznolikost i funkcionalne sposobnosti mikrobiote djece nalikuju mikrobioti odraslih osoba (16). Iako je u odrasloj dobi sastav crijevne mikrobiote relativno stabilan, moguće su promjene u sastavu istog zbog raznih životnih događaja kao što su izloženost različitim mikroorganizmima, konzumacije alkohola, pušenja, nezdravih prehrambenih navika, učestale primjene antibiotika i slično (17). Mikrobiota se mijenja i prilikom fizioloških promjena povezanih sa starenjem pa se kod osoba starijih od 65 godina povećava količina *Bacteroidetes phyla* i *Clostridium klastera IV*, dok kod mlađih osoba prevladava klaster XIVa (18). S druge strane, pojedini autori navode da je sastav mikrobiote iznimno sličan kod populacije do 70-e godine života, a raznolikost je značajno promijenjena kod stogodišnjaka (19). Primjerice, kod stogodišnjaka je uočeno značajno povećanje količine fakultativnih anaeroba (npr. *Escherichia coli*) te smanjenje količine mikroorganizama koji sudjeluju u metabolizmu kratkolančanih masnih kiselina i amilolize (20).

Prehrambene navike značajno utječu na sastav mikrobiote od najranije dobi te se pokazalo da dojenje pogoduje raznolikosti i bogatstvu bakterija, kao i kolonizaciji crijeva s *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Megasphaera* i klasom *Actinobacteria*, dok hranjenje adaptiranim mlijekom uzrokuje obogaćivanje *Clostridiales* i *phylum Proteobacteria* (14). Također, prehrambene navike odraslih uz druge čimbenike kao što su genetika domaćina, socioekonomski uvjeti, održavanje osobne higijene i higijene okoline, način pripreme i konzumacije hrane, učestalo

korištenje lijekova, kao i razne infekcije mogu utjecati na mikrobiotu pojedinca u odrasloj dobi (21).

2.2. Rasprostranjenost mikrobiote

Koncentracija mikrobiote se značajno razlikuje duž gastrointestinalnog trakta te se manje količine mikroorganizama nalaze u želucu, ali vrlo visoke koncentracije u debelom crijevu. Želudac i proksimalni duodenum predstavljaju negostoljubivo okruženje za mikroorganizme u kojem vrlo malo bakterija može preživjeti, s obzirom na kiselo stanje i enzime gušterače (22). Također, visoke razine kiselina, kisika i antimikrobnih sredstava prisutne su i u tankom crijevu koje karakterizira i kratko vrijeme prolaska te navedena svojstva ograničavaju razmnožavanje bakterija i preživljavaju samo brzo rastući, anaerobni organizmi koji se priljubljuju uz sluznicu. Nasuprot tome, uvjeti unutar debelog crijeva podržavaju gustu i raznoliku zajednicu bakterija, uglavnom anaerobnih sa sposobnošću korištenja složenih ugljikohidrata koji se ne mogu probaviti u tankom crijevu (23).

Želudac sadrži samo 10^1 bakteriju po gramu sadržaja, dok se veće gustoće i raznolikost bakterija nalaze se u duodenumu ($10^3/g$), jejunumu ($10^4/g$), ileumu ($10^7/g$) i debelom crijevu (10^{12} bakterija/g) (22). Većina ljudskih crijevnih mikroorganizama su strogo anaerobni i pripadaju tipu *Bacteroidetes*, *Firmicutes* i *Proteobacteria*, dok ostale crijevne bakterije s manjim apsolutnim postotkom u zdravom crijevu (obično ispod 1%) uglavnom pripadaju tipu *Actinobacteria*, *Verrumicrobia*, *Acidobacteria* ili *Fusobacteria* (23).

Profil mikroorganizama se također razlikuje između crijevnog epitela i crijevnog lumena. Vračaste stanice glavni su proizvođači glikoziliranih proteina, takozvanih mucina koji tvore gusti zaštitni sloj sluzi i sprječavaju prodiranje većine bakterija (21). Samo specijalizirane bakterije mogu prijanjati na sluz, koristiti sluz kao izvor hranjivih tvari ili dobiti pristup epitelnim stanicama, npr. *Clostridium*, *Lactobacillus* ili *Enterococcus*. Nasuprot tome, stolica sadrži brojne različite vrste bakterija koje pripadaju tipovima *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus*, *Clostridium*, *Lactobacillus* i *Ruminococcus* (24). Većina provedenih studija usmjerena je na istraživanje bakterija koje su prisutne u stolici, dok su informacije o mikroorganizmima u sluznici ograničene. Kako bi se istražili mikroorganizmi u sluznici gastrointestinalnog trakta potrebno je prikupiti uzorak tijekom kolonoskopije, dok je uzorak stolice puno lakše prikupiti. Ipak, dokazane su značajne razlike u sastavu i raznolikosti bakterija između uzorka stolice i biopsije kod iste osobe (25).

2.3.Uloga mikrobiote u obrani organizma

Gastrointestinalni trakt je mjesto direktne interakcije između domaćina i okolišnih čimbenika, a pritom mora osigurati uvjete za provođenje važnih životnih funkcija poput probave i apsorpcije hranjivih tvari. S obzirom na visoku koncentraciju bakterija u gastrointestinalnom traktu, ljudski organizam je razvio toleranciju prema korisnim i bezopasnim mikroorganizmima, ali i učinkovit obrambeni mehanizam od patogena i prekomjernog rasta bakterija (26).

Prvi učinkovit obrambeni mehanizam organizma predstavlja sluz koja oblaže crijeva, osobito unutarnji sloj sluzi koji zbog svoje velike gustoće sprječava prodiranje većine bakterija i na taj način izolira epitel od ogromne količine luminalne mikrobiote. Mucini, glikoproteini koji su sastavni dio sluzi, imaju važnu ulogu u odabiru komenzalnih crijevnih bakterija. Samo nekoliko mikroorganizama je u stanju prijanjati na sluz i to gotovo isključivo na vanjski sloj sluzi, ovisno o posjedovanju lektina. Proteini koji vežu sluz većinom su izolirani iz korisnih bakterija (npr. *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus plantarum* i *Lactobacillus rhamnosus*), no također pojedini patogeni mikroorganizmi, poput *Helicobacter pylori* i *Clostridium jejuni*, prijanjaju na sluz (27). Zanimljivo je da je velika količina *Akkermansia muciniphila* koja razgrađuje mucin pronađena u zdravom debelom crijevu, a smanjene razine pronađene su kod bolesnika s upalnom bolesti crijeva. Dakle, *A. muciniphila* može igrati važnu funkciju u održavanju crijevnog integriteta (28).

Intestinalni epitel koji odvaja lumen crijeva od lamine propria, uglavnom se sastoji od apsorpcijskih enterocita, vrčastih, Paneth i endoenterokrinih stanica. Stanični sloj tvori fizičku barijeru koja omogućuje ograničeni transport molekula između stanica, a čvrsti spoj sastoji se od nekoliko transmembranskih i citosolnih proteina, npr. okcludina, kladina, spojnih adhezijskih molekula ili zonula occludens te je točna regulacija proteina čvrstog spoja obavezna za integritet epitela (29). Poremećena funkcija barijere povezana je s Crohnovom bolešću, a upaljena mjesta sluznice pokazala su povećanu paracelularnu i vaskularnu propusnost. Zanimljivo je da određivanje bakterija sluznice s ozlijeđenih mjesta pacijenata s Chronovom bolešću pokazuje povećan broj *Escherichia*, ali smanjen udio *Lachnospira*, *Faecalibacterium* i *Blautia*, koji svi pripadaju tipu *Firmicutes*, u usporedbi s biopsijama sa susjednih mjesta na sluznici bez oštećenja. Dakle, može se zaključiti da disbioza pogoduje ili održava endotelne lezije kod Chronove bolesti (30).

Crijevni imunološki sustav stalno je suočen s mnogim antigenima, komenzalnim i oportunističkim mikroorganizama i potencijalnim patogenima te je stoga konstantno prisiljen

razlikovati neinvazivne bakterije i patogene. Epitelne stanice crijeva i posebno specijalizirane Panethove stanice koje se nalaze na dnu crijevnih kripti i antimikrobni proteini se aktiviraju tijekom rasta bakterija i luče antimikrobne stanice za uništavanje ili inaktivaciju bakterija (31). Osim toga, epitelne stanice i dendritične stanice prepoznaju bakterije putem takozvanih receptora za prepoznavanje uzoraka, kao što su Toll-like ili Nod-like receptori. Toll-like receptor 4 (TLR4) uglavnom reagira na gram-negativne bakterije, dok TLR2 aktiviraju stanične stijenke gram-pozitivnih bakterija. Receptori za prepoznavanje navedenih uzoraka imaju ključnu ulogu u aktivaciji imunološkog sustava, a vezanje mikroorganizama na iste dovodi do aktivacije imunoloških stanica nativnog i adaptivnog imunološkog sustava, npr. T stanica, plazma stanica, makrofaga i dendritičnih stanica do mjesta infekcije te lučenje kemokina i citokina (32).

Novi dokazi ukazuju na važnost interakcije između mikrobiote gastrointestinalnog trakta i mozga koja funkcionira na dvosmjernan način: dok mikrobiota crijeva utječe na središnji živčani sustav putem neuro-endokrinih, neuronskih i imunološki posredovanih mehanizama, mozak utječe na crijevnu mikrobiotu putem autonomnog živčanog sustava (33). Mikrobiota crijeva važan je proizvođač metabolita, poput kratkolančanih masnih kiselina, koji utječu na funkciju crijevne barijere, oslobađanje neurotransmitera (npr. serotonina), na simpatički živčani sustav te na modulaciju neurotransmitera (npr. GABA, serotonin, acetilkolin, histamin, melatonin) i neurotrofnog faktora iz mozga (34). Nadalje, crijevna mikrobiota modulira aferentne senzorne živce, npr. kroz inhibiciju kalijevih kanala ovisnih o kalciju i regulira imunološku funkciju sluznice. Mozak ima utjecaj na crijevnu mikrobiotu kroz modulaciju gastrointestinalnog motiliteta, proizvodnju sluzi, kao i promjenu crijevne propusnosti i imunološke funkcije (35).

2.4.Uloga mikrobiote u održavanju zdravlja organizma

Bakterije koje se nalazu u debelom crijevu omogućuju da organizam razgrađuje složene ugljikohidrate i pritom proizvodi kratkolančane masne kiseline (SCFA – *eng. short-chain fatty acids*) koje imaju iznimno važnu ulogu u gastrointestinalnom traktu. Tri prevladavajuće SCFA - propionat, butirat i acetat, sudjeluju u mnogim staničnim procesima kao što su ekspresija gena, kemotaksija, diferencijacija, proliferacija i apoptoza (36). Butirat je poznat po svojim protuupalnim i antikancerogenim djelovanjima, a posebno je važan izvor energije za kolonocite i može poboljšati funkciju crijevne barijere jer utječe na sklapanje usko spojenog spoja i sintezu

mucina (37). SCFA imaju značajnu ulogu i u regulaciji imunološkog sustava i upalnog odgovora te utječu na proizvodnju citokina, primjerice potiču proizvodnju interleukina koji je uključen u održavanje i popravak integriteta epitela. Također, SCFA moduliraju regulaciju apetita i unos energije putem mehanizama posredovanih receptorima (38).

Crijevna mikrobiota ima značajnu ulogu i u proizvodnji važnih vitamina koje ljudski organizam ne može samostalno proizvesti, već isti nastaju u gastrointestinalnom traktu uz pomoć crijevne mikrobiote. Bakterije mliječne kiseline iznimno su važne za sintezu vitamina B12, dok su bifidobakterije ključne za proizvodnju folata koji sudjeluje u sintezi i reparaciji DNA. Ostali vitamini koji se uz pomoć crijevne mikrobiote proizvode u organizmu uključuju vitamin K, riboflavin, biotin, nikotinsku kiselinu, pantotensku kiselinu, piridoksin i tiamin. Bakterije debelog crijeva imaju i sposobnost transformacije žučnih kiselina koje se ne reapsorbiraju u organizmu (39).

2.5. Mikrobiota i infekcija *C. difficile*

C. difficile je gram pozitivna bakterija koja se nalazi u gastrointestinalnom traktu 15% zdravih odraslih osoba, no prevalencija je mnogo veća kod starije populacije, hospitaliziranih pacijenata i štićenika domova za starije. Međutim, kolonizacija ne znači nužno razvoj infekcije jer i većina dojenčadi doživljava prolaznu kolonizaciju *C. difficile* bez razvoja infekcije (40). Kod odrasle populacije razni čimbenici mogu dovesti do narušavanja simbioze mnogobrojnih bakterija koje se nalaze u gastrointestinalnom traktu, a navedeno može dovesti do toga da različiti patogeni prijeđu u crijevnu floru i uzrokuju disbiozu. Disbioza se može definirati kao koncentracijski sastav crijevne mikrobiote koji se razlikuje od svog fiziološkog stanja, a općenito predstavlja smanjenu raznolikost i količinu bakterija. Promjene u fiziološkom sastavu crijevne mikrobiote se mogu povezati s raznim sistemskim bolestima, starijom životnom dobi i primjenom raznih lijekova. Antibiotici imaju dokazano razarajuće djelovanje na sastav crijevne mikrobiote, a *C. difficile* može iskoristiti stanje disbioze i uzrokovati infekciju. Uz sve češću primjenu antibiotika diljem cijelog svijeta, infekcija *C. difficile* je poprimila razmjere epidemije (41).

U Sjedinjenim Američkim Državama (SAD) je 2011. godine dokazana incidencija infekcije *C. difficile* od oko 453 000 slučajeva, na temelju podataka iz aktivnog praćenja populacije na različitim geografskim područjima, što je rezultiralo s oko 29 000 smrtnih slučajeva (42). Epidemiološki podaci o incidenciji infekcije *C. difficile* su oskudniji u Europi, zbog nedostatka

standardizacije dijagnostičkih procedura u bolnicama i metodologije nacionalnog nadzora. U studiji koja je provedena u 34 europske zemlje 2008. godine, učestalost *C.difficile* je uvelike varirala između zemalja, s ukupnom incidencijom od 4,1 na 10 000 pacijenata (43). Također, *C. difficile* je bio šesti najčešći patogen odgovoran za infekcije povezane sa zdravstvenom skrbi u Europi, prema studiji prevalencije provedenoj 2016. – 2017. godine, s godišnjim procijenjenim brojem slučajeva od 189 256 (44).

C. difficile se prenosi oralno-fekalnim putem preko spora, koje zapravo predstavljaju trenutno neaktivne stanice koje su vrlo otporne na uvjete okoline, uključujući neke dezinficijense i mnoge antimikrobne lijekove koji djeluju na aktivne stanice. Spore su glavni izvor infekcije *C.difficile* jer je puno manja vjerojatnost da će metabolički aktivne stanice ove anaerobne bakterije preživjeti okoliš izvan domaćina ili kiseli okoliš želuca (45). Klijanje neaktivnih spora ovisi o razini osjetljivosti primarnih žučnih kiselina iz jetre te je ograničeno zbog sekundarnih žučnih kiselina u debelom crijevu. Međutim, nakon razgradnje peptidoglikana spora, dolazi do rehidracije spora i posljedično do izrastanja stanica i kolonizacije bakterijama (46).

Proljev je učestalo prijavljivana nuspojava korištenja antibiotika koja se javlja kod 5% do 35% pacijenata koji uzimaju antibiotike (47). Iako se u dosadašnjim studijama povezuje javljanje proljeva nakon primjene antibiotika kao rezultat povećanog razmnožavanja patogena kao što su *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella oxytoca*, *Candida spp.* i *Salmonella spp.*, ipak se 10-20% slučajeva proljeva nakon uzimanja antibiotika povezuje s povećanim razmnožavanjem *C. difficile* (48).

Klinička slika infekcije *C.difficile* je raznolika, a varira od asimptomatskog stanja, blagog ili umjerenog proljeva, do životno opasnog fulminantnog kolitisa. Javljanje proljeva nakon korištenja antibiotika se također razlikuje od pojedinca do pojedinca, odnosno proljev može početi tijekom ili neposredno nakon uzimanja antibiotika ili može biti odgođen nekoliko tjedana nakon prestanka uzimanja antibiotika. Simptomi mogu biti ograničeni samo na gastrointestinalni trakt kao što su vodenasti proljev, bol u truhu, mučnina i povraćanje, nadutost trbuha i gubitak apetita ili mogu biti sistemski poput povišene tjelesne temperature, slabosti, generaliziranog edema, dehidracije, cirkulacijskog šoka i zatajenja više organa. Značajna hipoalbuminemija i povišeni kreatinin s perifernim edemom ukazuju na tešku bolest i značajan morbiditet i smrtnost (49).

Prema Američkom koledžu za gastroenterologiju (*eng. American College of Gastroenterology*) infekcija *C.difficile* se klasificira na sljedeći način: blaga infekcija - samo proljev; umjereni infekcija - proljev i bol u truhu; teška infekcija – znakovi i simptomi koji

zadovoljavaju kriterije za sindrom sistemskog upalnog odgovora, nizak albumin, prijem na jedinicu intenzivne njege (JINJ) ili dokaz krajnjeg zatajenja organa (50). Do ponovne infekcije *C.difficile* nakon liječenja dolazi kod 13-20% pacijenata, a najčešće do ponovne infekcije dolazi kroz 8 tjedana od završetka primjene antibiotika. Sa svakim sljedećim recidivom se stope ponovne infekcije značajno povećavaju, odnosno nakon prvog recidiva stopa drugog recidiva se povećava na 40%, a kasnije na više od 60%. Pacijenti s ponavljajućom infekcijom *C.difficile* imaju značajno narušeno stanje crijevne mikrobiote što ih može predisponirati na višestruke recidive (51).

Prvi korak u liječenju infekcije je otkriti koji je okidač infekcije kod pacijenta te ga ublažiti ukoliko je to moguće, a najčešće je okidač terapija antibioticima. Iako smanjenje doze ili potpuni prekid liječenja antibioticima može potaknuti obnovu crijevne mikrobiote, mnogi antibiotici primjenjuju se za liječenje infekcije *C.difficile*, a trenutne smjernice sugeriraju da početno liječenje uključuje 1 od 2 antibiotika. Za blagu do umjerenu infekciju, metronidazol 500 mg oralno 3 puta dnevno tijekom 10 dana ostaje izbor liječenja prve linije. Ako pacijent ne može uzimati metronidazol, ili se kliničko poboljšanje se ne vidi unutar 5 do 7 dana, može se zamijeniti vankomicinom 125 mg peroralno 4 puta dnevno tijekom 10 dana. Kod blage do umjerene infekcije, fidaksomicin 200 mg peroralno 2 puta dnevno tijekom 10 dana učinkovita je alternativa vankomicinu, dok se u slučajevima teške infekcije preporučuje vankomicin 125 mg peroralno 4 puta dnevno tijekom 10 dana (50).

S obzirom da se *C.difficile* smatra bakterijom koja uzrokuje infekciju samo u uvjetima disbioze, obnavljanje zdrave crijevne mikroflore putem transplantacije fekalne mikrobiote može se smatrati metodom izbora liječenja. Konsenzusni dokument iz 2010. godine identificirao je 3 primarne indikacije za razmatranje transplantacije fekalne mikrobiote: višestruka rekurentna infekcija *C.difficile*, umjerena infekcija bez odgovora na standardnu terapiju (vankomicin ili fidaksomicin) kroz najmanje tjedan dana i teška infekcija bez odgovora na standardnu terapiju kroz 48 sati (52).

Postupak transplantacije fekalne mikrobiote te njezina primjena kod pacijenata s infekcijom *C.difficile* biti će objašnjena u narednom poglavlju rada.

3. TRANSPLANTACIJA FEKALNE MIKROBIOTE

Postupak transplantacije fekalne mikrobiote koji se provodi i danas prvenstveno je opisan 1958.godine (53), a u narednim desetljećima navedeni postupak se sve više prihvaća kao metoda liječenja mnogih bolesti gastrointestinalnog trakta. U Republici Hrvatskoj je prva transplantacija fekalne mikrobiote provedena 2017. godine (54), čime je Hrvatska postala jedna od 17 zemalja Europe u kojima se provodi transplantacija fekalne mikrobiote (55).

Transplantacija fekalne mikrobiote se može definirati kao uvođenje stolice zdrave osobe u gastrointestinalni trakt pacijenata s dijagnosticiranom crijevnom disbiozom, a mehanizam djelovanja podrazumijeva uspostavljanje nove fiziološke zajednice mikroorganizama kako bi se obnovila normalna funkcija crijeva (56). Dakle, temelj terapijskog djelovanja transplantacije fekalne mikrobiote je u ponovnom nastanjanju crijeva zdravim bakterijskim organizmima, što se pokazalo uspješnim u liječenju pacijenata s infekcijom *C. difficile*, upalnim bolestima crijeva, autoimunim poremećajima/bolestima, alergijskim reakcijama i metaboličkim poremećajima (57). Kod infekcije *C.difficile*, transplantacija fekalne mikrobiote je već pri prvoj primjeni učinkovita u više od 90% slučajeva, a učinkovitost i sigurnost transplantacije fekalne mikrobiote dokazana je putem mnogih randomiziranih kliničkih ispitivanja (58,59,60). Dakle, jedna primjena transplantacije fekalne mikrobiote izliječi 80-90% slučajeva infekcije *C. difficile*, u usporedbi sa stopama izlječenja od 26-30% s primjenom vankomicina, a ponovljena transplantacija povećava stope izlječenja na više od 95% (61). Transplantacija fekalne mikrobiote smanjuje troškove i istovremeno poboljšava kvalitetu života pacijenata, u usporedbi s vankomicinom, štedeći preko 4 000 američkih dolara po liječenom pacijentu (62), stoga je preporučena terapija za ponavljajuću, refraktornu ili tešku infekciju *C. difficile* u nacionalnim i međunarodnim smjernicama (58). Dosadašnja istraživanja također dokazuju da je transplantacija fekalne mikrobiote iznimno uspješna u liječenju infekcije *C.difficile* bez obzira na spol, dob i prisutne komorbiditete pacijenata (63,64,65,66).

Iako postupak transplantacije fekalne mikrobiote zahtijeva multidisciplinarni tim, značajnu ulogu ima medicinska sestra koja priprema pacijenta za transplanataciju fekalne mikrobiote, sudjeluje u procesu iste te zbrinjava pacijenta nakon same transplantacije feklane mikrobiote. U narednim poglavljima opisati će se tehnike probira donora, proces prikupljanja, skladištenja, pripreme transplantata, zbrinjavanje pacijenta prije i nakon transplantacije te sam postupak transplantacije fekalne mikrobiote, a u svemu navedenome će se posebno naglasiti zadaci medicinske sestre.

3.1. Probir donora i uzimanje transplantata

Kako bi se smanjio rizik od infekcije ili prijenosa druge bolesti, potencijalni darivatelji prolaze rigorozni pregled uključujući temeljito uzimanje anamneze, serološke testove i fekalne testove na parazitske, virološke i bakterijske patogene (67). Odabir donora stolice usredotočuje se na dva čimbenika: povijest zdravlja donora i negativni laboratorijski rezultati krvi/stolice. Obično se svaka zdrava odrasla osoba, u dobi od 18 do 60 godina, s normalnim crijevnim navikama, smatra idealnim kandidatom donaciju stolice. Svi potencijalni donori moraju se prijaviti na intervju koji se sastoji od mnogih pitanja o čimbenicima rizika za prijenos bolesti, a manje od 3% potencijalnih donora kvalificiraju se za najveću poznatu banku fekalnih transplantata u SAD-u (68). Intervjuom koji potencijalni donori prolaze prije kliničkog pregleda, najčešće je isključeno 65% pojedinaca na temelju njihovih odgovora, obično zbog nezadovoljavajućeg indeksa tjelesne težine, logističkih ograničenja i nedavne uporabe antimikrobnih sredstava. Donori koji prođu intervju su zatim podvrgnuti kliničkoj procjeni, pri čemu je više od 80% preostalih pojedinaca isključeno, a preostali kandidati podvrgnuti su daljnjim laboratorijskim ispitivanjima čime se 50% kandidata se odbija na temelju prisutnosti *Dientamoeba fragilis*, *Blastocystis hominis*, *Clostridium difficile* i *Rotavirusa* u uzorcima stolice (69). Ukoliko je donor zadovoljio sve kriterije za uzimanje stolice, ista se provodi unutar mjesec dana.

Transplantat se može dobiti od donora povezanih ili nepovezanih s pacijentom, a prema dostupnim studijama, nema značajne razlike između članova uže ili šire obitelji i nepovezanih darivatelja (70). Zbog sve češće primjene transplantacije fekalne mikrobiote, sve se češće stolica uzima od nepovezanih donora jer omogućava veću dostupnost transplantata, a ista se čuva u bankama transplantata u smrznutom obliku. Lee i sur. proveli su istraživanje uspješnosti transplantacije fekalne mikrobiote sa smrznutim i svježim transplantatom, a dokazali su kliničku uspješnost liječenja od 83,5% i 85,1% u svakoj skupini, pokazujući da je smrznuti fekalni materijal bio jednako učinkovit kao i svježa stolica (71). Korištenje smrznute stolice od univerzalnih donatora smanjuje troškove liječenja, kao i vrijeme između donošenja odluke o provođenju transplantacije fekalne mikrobiote i provođenja iste.

Probir kandidata za donaciju stolice uključuje provođenje intervjua, a prilikom istog je iznimno važno da potencijalni donori budu upoznati s važnošću potpune iskrenosti prilikom odgovaranja na pitanja o zdravstvenom stanju. Također, potrebno je educirati donore o cijelom postupku laboratorijskih ispitivanja, kao i postupku uzimanja uzoraka stolice kako bi bili upoznati sa svim koracima koji prate doniranje stolice. Kako bi se olakšalo uzimanje adekvatne

količine stolice, potrebno je uputiti donore da konzumiraju zdravu hranu, povećaju unos vlakana kroz voće, povrće i cjelovite žitarice te ukoliko je potrebno, noć prije donacije uzmu sredstvo za omekšavanje stolice. Donor koristi čistu plastičnu posudu koja se postavlja na WC školjku za sakupljanje stolice (fekalni šešir), kako bi sačuvala svježi uzorak stolice od najmanje 50g fekalnog materijala. Uzorak stolice, unutar spremnika za prikupljanje, donor donosi u mikrobiološki laboratorij. Fekalni materijal pohranjuje se u UV-steriliziran biosigurnosni ormar koji je očišćen sporicidnim sredstvom, namijenjen za obradu uzoraka i izoliran je od svih drugih procesa ili materijala unutar ustanove. Prilikom rukovanja s transplantatom potrebno je koristiti zaštitnu opremu, kako bi se prevenirala moguća kontaminacija. Stolica se može čuvati do 8 sati na 4°C bez značajnog utjecaja na preživljavanje bakterija, ali održivost opada na sobnoj temperaturi ili na 4°C nakon više od 8 sati. Ukoliko se donirana stolica ne planira koristiti za transplantaciju unutar nekoliko dana, ista prolazi proces kriokonzervacije na temperaturama u rasponu od – 80°C u električnim zamrzivačima, do – 196°C ukoliko se koristi tekući dušik (72).

Fekalna biobanka Medicinskog fakulteta u Rijeci je prva banka humanih fekalnih uzoraka u Republici Hrvatskoj. Otvorena je 2021.godine u svrhu daljnjeg razvoja i liječenja pacijenata transplantacijom fekalne mikrobiote. Otvaranjem Biobanke omogućen je sustav za nesmetanu i stalnu opskrbu fekalnim materijalom, a prostor je predviđen za pripremu i dugotrajnu pohranu fekalnog sadržaja. Sve bolnice u Republici Hrvatskoj su potencijalni korisnici biobanke jer se fekalni materijal koji je pravilno skladišten može poslati gdje god se izvodi proces transplantacije (73).

3.2.Priprema stolice i uloga medicinske sestre pri provođenju transplantacije fekalne mikrobiote

Nakon prikupljanja svježe stolice od donora, ista se homogenizira kroz različite metode miješanja te dodaje fiziološka otopina 0,9%, a zatim se filtrira kroz laboratorijska sita od nehrđajućeg čelika 2,0, 1,0, 0,5 i 0,25 mm s ciljem uklanjanja neprobavljene hrane i manjih čestica. Dobiveni materijal nakon prolaska kroz filter od 0,25 mm centrifugira se na 6000×g kroz 15 minuta i dopunjuje sterilnim farmaceutskim glicerolom ukoliko je stolica predviđena za zamrzavanje. Na dan transplantacije, fekalna suspenzija se otapa u toploj vodenoj kupelji na 37°C, a ista se mora transplantirati unutar 4 h od odmrzavanja. Nakon odmrzavanja procjenjuje se da li je potrebno dodavanje fiziološke otopine kako bi se dobio željeni volumen suspenzije. U slučaju neposredne primjene stolica se razrjeđuje u sterilnoj fiziološkoj otopini, bez glicerola

te istu homogenizira i filtrira kako je prethodno opisano i primjenjuje unutar manje od 6 h nakon prikupljanja od donora. Bez obzira primjenjuje li se svježa ili odmrznuta stolica, ista se zagrijava na 37°C kako bi temperatura bila čim bliža onoj u gastrointestinalnom traktu primatelja, a samim time osigurala udobnost i prevenirali bolovi i/ili grčevi (74).

Važno je da medicinska sestra bude dobro upoznata s povijesti bolesti pacijenta prije transplantacije fekalne mikrobiote, odnosno da bude upućena u tijek bolesti i sve prisutne simptome kod pacijenta kako bi mogla provesti objektivnu procjenu zdravstvenog stanja pacijenta nakon transplantacije. Neki pacijenti mogu imati blage perzistirajuće simptome koji se mogu krivo protumačiti i djelovati zbunjujuće tijekom postupka transplantacije fekalne mikrobiote. Ključne sestrinske dijagnoze u procjeni pacijenata s infekcijom *C.difficile* mogu sadržavati akutnu bol povezanu s grčevima u trbuhu i iritacijom anusa, dehidraciju, narušen integritet kože, narušenu društvenu interakciju povezanu s rijetkim i učestalim stolicama, smanjenu apsorpciju hranjivih tvari iz gastrointestinalnog trakta. Također, učestale stolice noću mogu uzrokovati manjak sna, povećati razdražljivost i pospanost tijekom dana te uzrokovati kronični umor i nedostatak snage (75).

Zasad ne postoji protokol standardiziranih kliničkih postupaka koji se koristi prije liječenja transplantacijom fekalne mikrobiote, a razlike ovise o zdravstvenom stanju pacijenta i njegovim potrebama, afinitetima zdravstvenih djelatnika i zahtjevima samog postupka. No, sve pacijentice moraju imati negativan test urina na trudnoću zbog nepoznatog rizika za fetus prije započinjanja postupka transplantacije, a dojiljama nije dozvoljeno liječenje transplantacijom fekalne mikrobiote iz razloga jer su rizici također nepoznati i za dojenju djecu. Transplantacija fekalne mikrobiote se može provesti kroz gornji gastrointestinalni trakt putem ezofagogastroduodenoskopije, nazogastrične, nazojejunalne ili nazoduodenalne sonde te kroz donji gastrointestinalni trakt, putem kolonoskopije ili retencijskog klistira. Nazogastrične i nazointestinalne sonde mogu biti manje privlačne i neugodne za pacijenta, zahtijevaju dodatnu radiološku dijagnostiku za potvrdu mjesta cijevi zbog rizika od povraćanja i aspiracije. Ako pacijent prima transplantirani materijal putem kolonoskopije, potrebno je prethodno prije postupka pristupiti čišćenju crijeva od stolice prema protokolu u svrhu poboljšanja vizualizacije sluznice crijeva. Transplantacija fekalne mikrobiote putem kolonoskopije ima superiornost u rekolonizaciji cijelog debelog crijeva s mikrobiotom, a dodatno ispiranje crijeva može smanjiti postojeći patogeni sadržaj i olakšati kolonizaciju mikrobiotom zdravih donora (76). Transplantacija putem retencijskog klistira je jeftinija, pristupačnija i manje invazivna metoda od kolonoskopije, ali donorski fekalni materijal ne može biti isporučen na cijelo debelo crijevo, stoga je ova metoda ograničena na distalni kolon. Također, nekim pacijentima može biti teško

zadržavanje fekalnog transplantata u crijevu i zahtijeva višestruke ponavljajuće tretmane (77). Međutim, ne postoji široki konsenzus o optimalnom načinu transplantacije fekalne mikrobiote, već odabir ovisi o individualnim potrebama pacijenta, njegovim željama te mogućnostima ustanove u kojoj se provodi transplantacija.

Prije same transplantacije fekalne mikrobiote, medicinska sestra educira pacijenta o cijelom procesu (sukladno odabranom načinu primjene) te pacijentu pruža psihološku podršku. Iako je sam postupak minimalno invazivan, pacijenti često osjećaju anksioznost i neugodu, stoga je važno da im medicinska sestra putem verbalne i neverbalne komunikacije pruži osjećaj sigurnosti. Neposredno prije same primjene transplantacije fekalne mikrobiote, medicinska sestra procjenjuje vitalne znakove pacijenta (puls, krvni tlak, tjelesna temperatura) i iste evidentira u sestrinsku dokumentaciju. Ukoliko se transplantacija fekalne mikrobiote provodi putem kolonoskopije i retencijskog klistira, medicinska sestra pozicionira pacijenta u ležeći položaj na lijevom boku, a s obzirom da sam postupak fekalne transplantacije može narušiti osjećaj dostojanstva kod pacijenta, medicinska sestra mu osigurava privatnost izolacijom od ostalih pacijenata te prikrivanjem svih dijelova tijela osim rektalnog područja (78). Transplantacija fekalne mikrobiote putem kolonoskopije može biti iznimno bolna za pacijenta zbog kretanja endoskopa kroz debelo crijevo, a medicinska sestra mu može pružiti verbalnu podršku tijekom postupka. Transplantacija putem retencijskog klistira najčešće podrazumijeva primjenu dvije doze svakih 15 minuta, odnosno ukupno 6 do 8 doza kroz sat vremena. Nakon primjene klistira, pacijent bi trebao zadržati transplantirani sadržaj kroz najmanje sat vremena, a pritom medicinska sestra prati pacijenta i nastoji mu omogućiti najveću moguću razinu udobnosti. Pacijenti najčešće osjećaju iznenadnu potrebu za pražnjenjem crijeva, a osiguravanje sanitarnih uvjeta za isto te higijenskih potrepština, može olakšati cjelokupan proces za pacijenta i osigurati mu osjećaj sigurnosti (78,79). Nakon ambulantne transplantacije fekalne mikrobiote putem kolonoskopa na Zavodu za gastroenterologiju Kliničkog bolničkog centra Rijeka, pacijenti se opserviraju 2 sata putem dnevne bolnice. Medicinska sestra brine o pacijentu, provjerava vitalne znakove (krvni tlak, puls, tjelesnu temperaturu) te ukoliko postoji indikacija, daje pacijentu lijekove prema odredbi liječnika i iste evidentira u medicinsku dokumentaciju pacijenta. Također, medicinska sestra educira pacijenta o mogućim nuspojavama i znakovima komplikacije nakon transplantacije fekalne mikrobiote.

Najčešće nuspojave transplantacije fekalne mikrobiote uključuju bolove u želucu, proljev, nadutost s mučninom i povraćanjem, opstipaciju i blagu groznicu. Takvi simptomi su obično kratkotrajni i nestaju nakon nekoliko sati, no medicinska sestra treba informirati pacijenta da se javi liječniku ukoliko simptomi traju duže od očekivanog. Dvije najčešće nuspojave

transplantacije fekalne mikrobiote su nadutost i rijetka stolica tijekom prva 24 sata, a obično nestaju ubrzo nakon toga. Većina pacijenata općenito ima formiranu stolicu za 1-2 tjedna.

Test lančane reakcije polimerazom na toksin *C. difficile* može ostati pozitivan 30 dana nakon uspješnog liječenja, što je razlog da se ne testiraju asimptomatski primatelji transplantacije fekalne mikrobiote. Ne postoji prihvaćeni standardni protokol za praćenje pacijenata nakon transplantacije fekalne mikrobiote, a većina liječnika kontaktira pacijenta kako bi procijenili uspjeh liječenja i komplikacije oko 3-7 dana nakon transplantacije te nakon 4-8 tjedana. Ako se kod bolesnika pojavi tekuća stolica i ponavljanje simptoma s pozitivnim testom stolice na *C. difficile*, transplantacija fekalne mikrobiote se smatra neuspješnom. Studije sugeriraju da se većina neuspjeha događa unutar 4 tjedna od transplantacije (80), a Allegretti i sur. (81) izvijestili su da od svih slučajeva neuspjele transplantacije, 25% nije uspjelo unutar prvog tjedna, a pacijenti su opisani kao primarni nereagirajući. Drugih 61% nije uspjelo između 1. i 4. tjedna, a pacijenti se nazivaju rani sekundarni nereagirajući. Na temelju ovih podataka, autori su predložili praćenje bolesnika otprilike 4 tjedna nakon transplantacije fekalne mikrobiote. Potrebno je učiniti kontrolni pregled kod gastroenterologa, a ukoliko su i dalje prisutni proljevi potrebno je ponoviti uzimanje uzorka stolice za mikrobiološku analizu te daljnje postupanje prema uputama liječnika.

4. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj istraživanja bio je prikazati broj pacijenata kod kojih je provedena transplantacija fekalne mikrobiote na Zavodu za gastroenterologiju Klinike za internu medicinu Kliničkog bolničkog centra Rijeka, kao metoda liječenja infekcije uzrokovane *Clostridium difficile*, u vremenskom periodu od 10.05.2017. do 31.12.2021. godine. Sekundarni ciljevi istraživanja bili su prikazati uspješnost liječenja transplantacijom fekalne mikrobiote kod pacijenata s infekcijom uzrokovanom *C. difficile* s obzirom na spol, dob te na prisutne komorbiditete.

HIPOTEZE:

H1: Transplantacija fekalne mikrobiote podjednako je uspješna metoda liječenja infekcije uzrokovane *C. difficile*, bez obzira na spol pacijenata.

H2: Uspješnost liječenja infekcije *C.difficile* je podjednaka kod pacijenata svih dobnih skupina.

H3:Transplantacije fekalne mikrobiote podjednako je uspješna metoda liječenja infekcije uzrokovane *C. difficile* neovisno o prisustvu komorbiditeta.

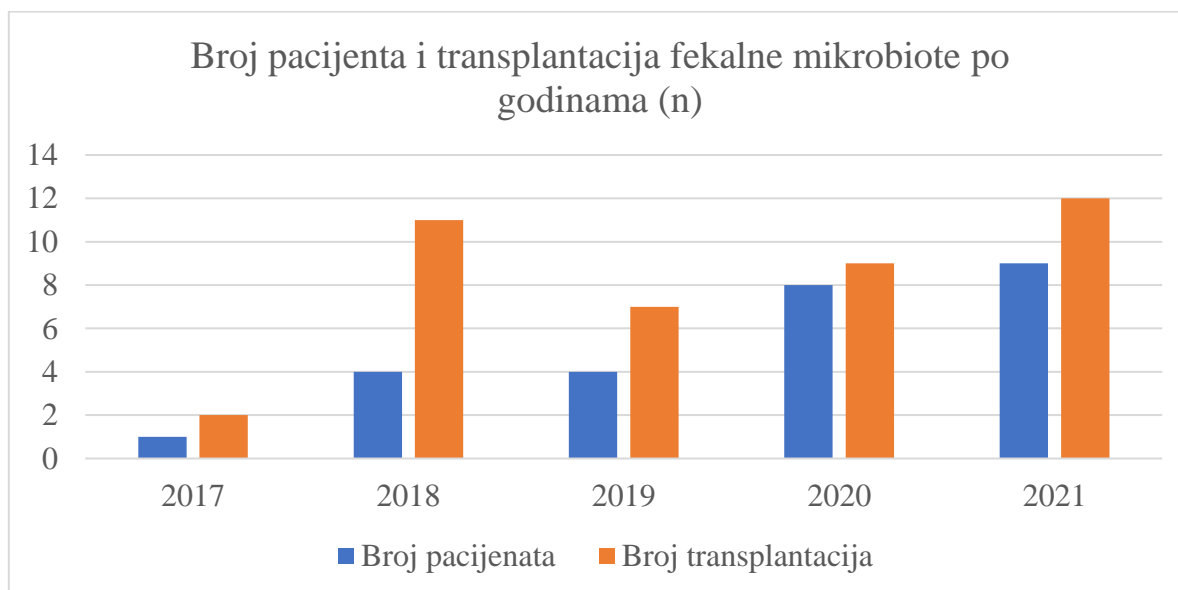
5. METODE ISTRAŽIVANJA

U istraživanje je uključen prigodan uzorak ispitanika, odnosno podatci prikupljeni iz medicinske dokumentacije Kliničkog bolničkog centra Rijeka kroz bolnički informatički sustav, unutar vremenskog razdoblja od 10.05.2017. do 31.12.2021. godine. Kriteriji uključanja u istraživanje bili su infekcija uzrokovana *C. difficile* kao indikacija za transplantaciju fekalne mikrobiote i minimalno jedna transplantacija fekalne mikrobiote. Iz istraživanja su isključeni pacijenti kod kojih je infekcija *C. difficile* liječena drugim metodama te pacijenti koji imaju druge indikacije za transplantaciju fekalne mikrobiote.

Prikupljanje i upisivanje podataka potrebnih za ostvarivanje istraživanja izvršilo se pomoću programa Microsoft Office Excel 2016. Daljnja obrada podataka odrađena je u programu Statistica (Version 13.5.0.17, 1984-2018 TIBCO Software Inc). Podatci dobiveni istraživanjem obrađeni su i prikazani deskriptivnom statistikom u obliku grafova. Broj pacijenta i provedenih transplantacija prikazan je u obliku ukupnih brojeva i postotaka u ovisnosti o spolu, dobnoj skupini, ishodu transplantacije, završnom ishodu pacijenata, broju transplantacija i prisustvu komorbiditeta. Razlike u frekvencijama uspoređene su pomoću Fischer egzaktnog testa na razini statističke značajnosti 0,05 (5%). Dob pacijenata u ovisnosti o spolu prikazana je tablično u obliku aritmetičke sredine i standardne devijacije, medijana i raspona. Razlika u dobi između muškaraca i žena radi malog broja pacijenata ispitana je pomoću neparametrijskog testa za nezavisne uzorke Mann-Whitney U Testa na razini statističke značajnosti 0,05 (5%).

6. REZULTATI

Unutar vremenskog razdoblja od 10.05.2017. do 31.12.2021. u KBC-u Rijeka provedena je ukupno 41 transplantacija fekalne mikrobiote u svrhu liječenja infekcije uzrokovane *C.difficile*, u čemu je sudjelovalo 26 pacijenata. Najveći broj pacijenta (n=9) i transplantacija (n=12) zabilježen je u 2021. godini.



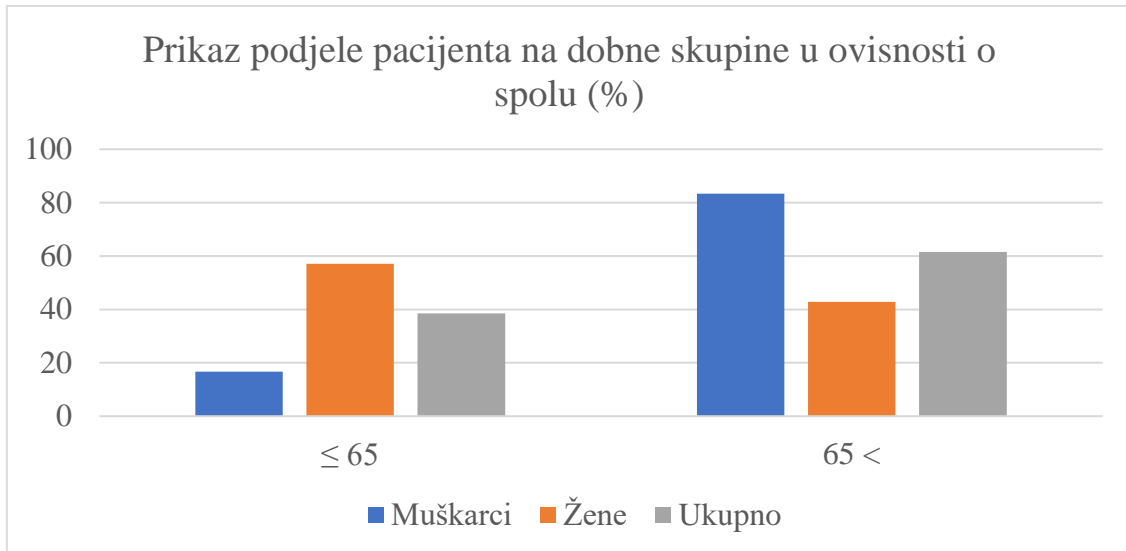
Slika 1 - grafički prikaz broja pacijenta i izvedenih transplantacija fekalne mikrobiote po godinama

U istraživanju sudjelovalo je 53,85% (n=14) pacijenta ženskog spola i 46,15% (n=12) pacijenata muškog spola. Prosječna dob svih pacijenata iznosila je $65,88 \pm 13,37$ godina.

Tablica 1. Prikaz prosječne dobi pacijenata u ovisnosti o spolu.

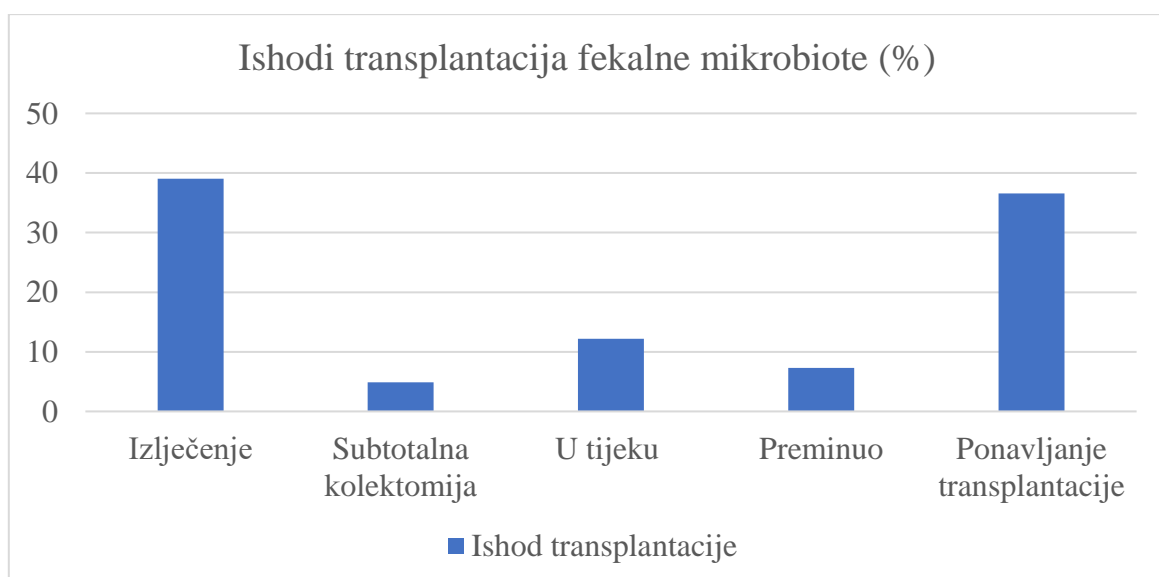
| | n | Aritmetička sredina \pm std.dev | Medijan | Raspon (min-max) | p |
|----------|----|--------------------------------------|---------|---------------------|--------|
| Muškarci | 12 | $72,17 \pm 9,75$ | 72,50 | 53-88 | 0,027* |
| Žene | 14 | $60,50 \pm 13,99$ | 62,50 | 36-84 | |
| Ukupno | 26 | $65,88 \pm 13,37$ | 66,50 | 36-88 | |

Pacijenti su podijeljeni na dvije dobne skupine, na one koji imaju 65 godina ili manje te one koji imaju više od 65 godina. 65 godina ili manje imalo je 38,46% (n=10) pacijenata, a više od 65, njih 61,54% (n=16).



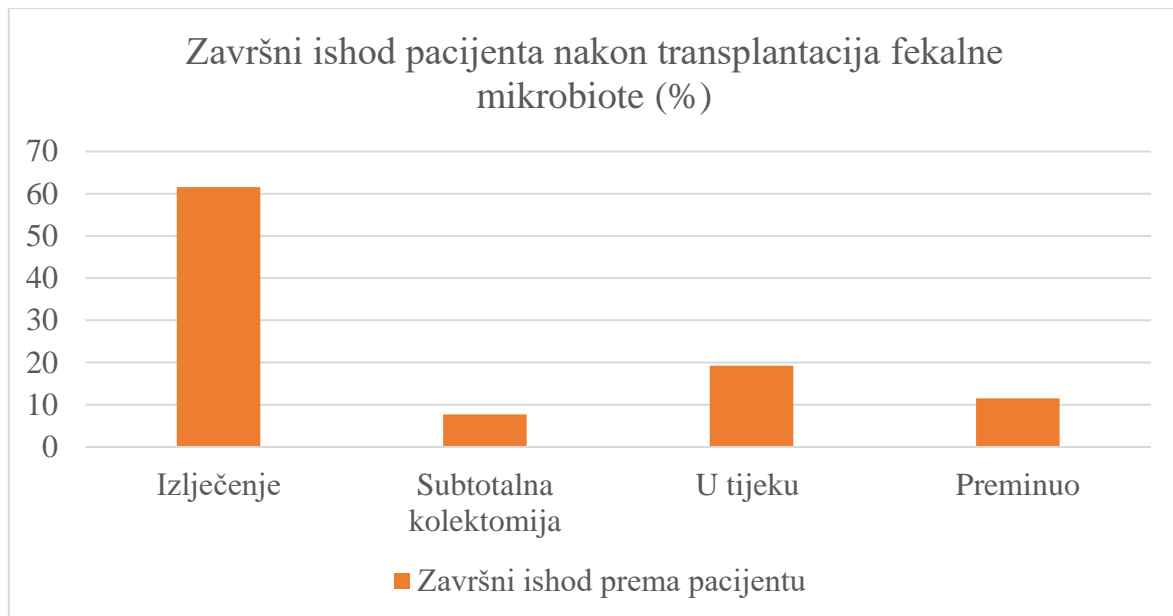
Slika 2 - grafički prikaz podjele pacijenta na dobne skupine u ovisnosti o spolu

Ishodi svih provedenih transplantacija fekalne mikrobiote podijeljeni su na izlječenje (39,02%, n=16), ponavljanje transplantacije (36,59%, n=15) te subtotalnu kolektomiju (4,88%, n=3). Ishodi koji se ne mogu uključiti obuhvaćaju transplantacije koje su u tijeku i pacijente koji su preminuli bez da im se utvrdila uspješnost transplantacije.



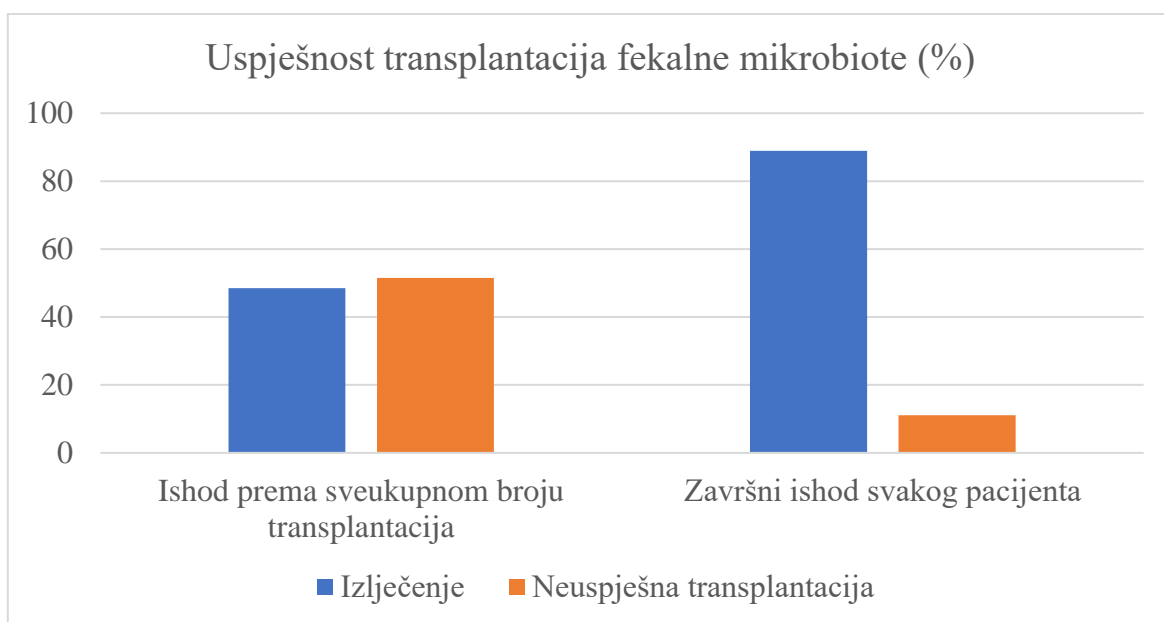
Slika 3 - grafički prikaz ishoda transplantacije fekalne mikrobiote (%)

Promatra li se završni ishod pacijenata nakon transplantacije fekalne mikrobiote vidljivo je da najveći postotak pacijenata na kraju doživi izlječenje, točnije njih 61,54% (n=16), a 4,69% (n=2) pacijenta doživi subtotalnu kolektomiju. Kod 19,23% (n=5) pacijenta je liječenje u tijeku i nemamo završne rezultate, kao i za 11,54% (n=3) pacijenata koji su preminuli.



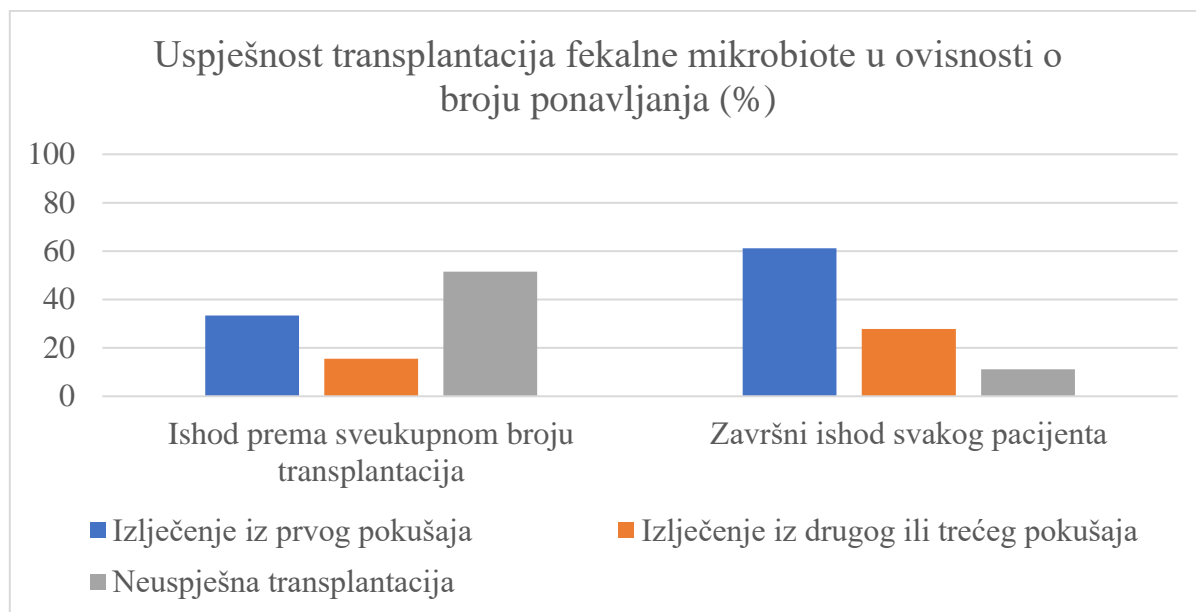
Slika 4 - grafički prikaz završnog ishoda pacijenata nakon transplantacija fekalne mikrobiote (%)

Promatraju li se samo one intervencije koje su rezultirale uspješnim ili neuspješnim rezultatom, 48,48% (n=16) transplantacija rezultiralo je izlječenjem, a 51,52% (n=17) čine neuspjele transplantacije.



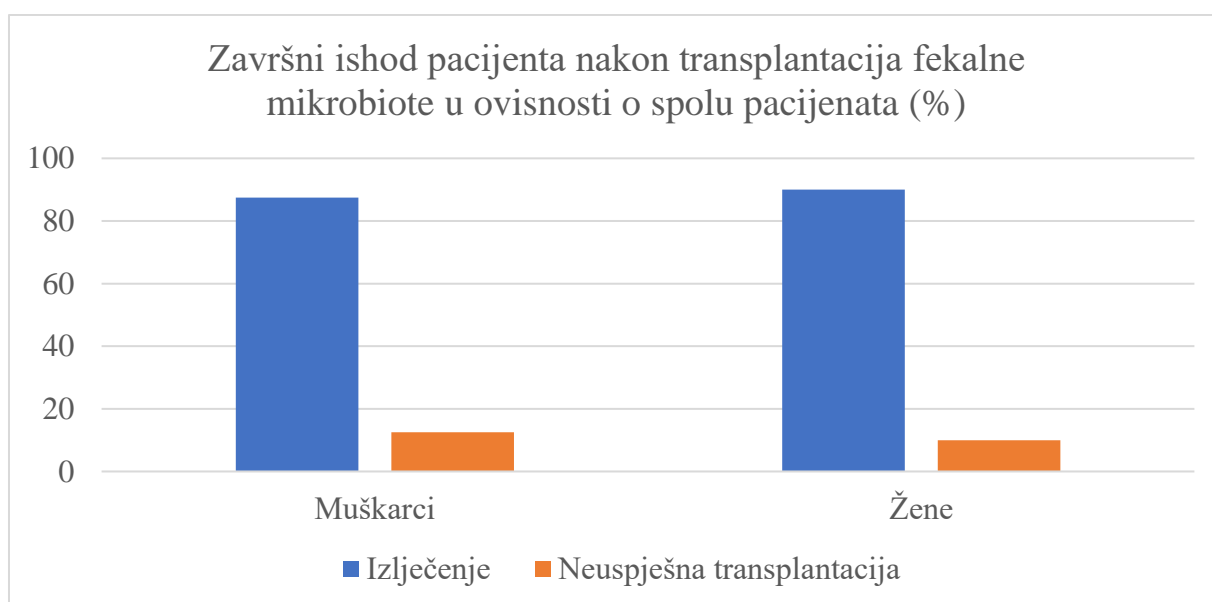
Slika 5 - grafički prikaz uspješnosti transplantacija fekalne mikrobiote (%)

Pozitivan ishod transplantacije fekalne mikrobiote iz prvog pokušaja doživjelo je 61,11% (n=11) pacijenata, dok je 27,78% (n=5) imalo uspješnu transplantaciju nakon dva ili tri pokušaja.



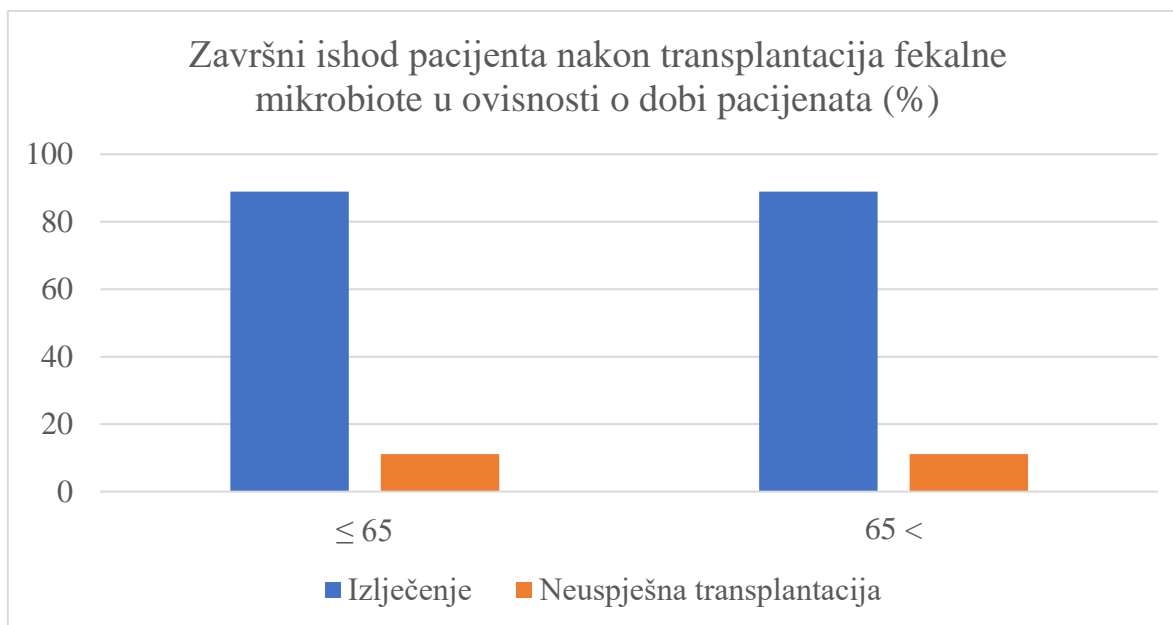
Slika 6 - grafički prikaz uspješnosti transplantacija fekalne mikrobiote u ovisnosti o broju ponavljanja (%)

Završni ishodi pacijenata nakon transplantacije fekalne mikrobiote ukazuju na to da pacijenti ženskog spola u neznatno većem postotku (90,00%) doživljavaju izlječenje u usporedbi s pacijentima muškog spola (87,50%).



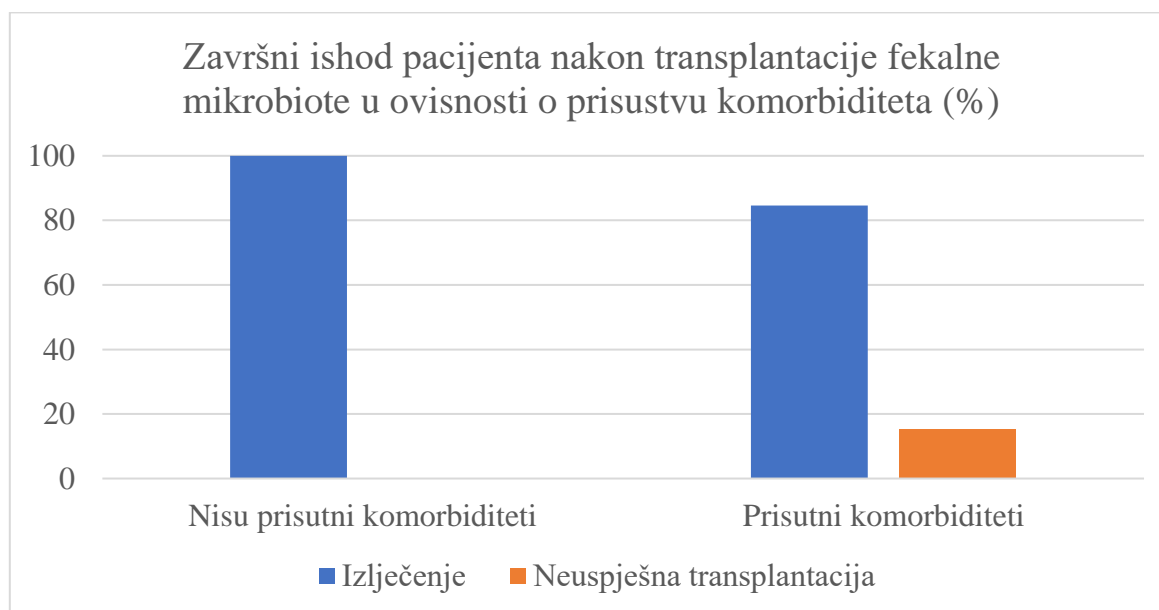
Slika 7 - grafički prikaz završnog ishoda pacijenata nakon transplantacija fekalne mikrobiote u ovisnosti o spolu pacijenata (%)

Završni ishodi pacijenta nakon transplantacije fekalne mikrobiote ukazuju na to pacijenti koji imaju 65 godina ili manje (n=9) i pacijenti koji imaju više od 65 godina (n=9) u podjednakom postotku (88,89%) doživljavaju izlječenje kao završni ishod liječenja.



Slika 8 - grafički prikaz završnog ishoda pacijenata nakon transplantacija fekalne mikrobiote u ovisnosti o dobi pacijenata (%)

Pacijenti koji nisu imali prisutne komorbiditete (n=5) doživjeli su izlječenje u 100% slučajeva, a pacijenti koji su imali jedan ili više komorbiditeta (n=13) su doživjeli izlječenje u 84,62% slučajeva.



Slika 9 - grafički prikaz završnog ishoda pacijenata nakon transplantacije fekalne mikrobiote u ovisnosti o prisustvu komorbiditeta (%)

7. RASPRAVA

U Republici Hrvatskoj se transplantacija fekalne mikrobiote s ciljem liječenja infekcije *C.difficile* po prvi puta izvela u svibnju 2017. godine u Kliničkom bolničkom centru Rijeka (54), a od tada do kraja 2021. godine provela se ukupno 41 transplantacija za liječenje navedene indikacije. Klinički bolnički centar Rijeka je 2019. godine bio jedina ustanova u Republici Hrvatskoj u kojoj se provodila transplantacija fekalne mikrobiote, a navedene godine je provedeno 7 transplantacija fekalne mikrobiote s ciljem liječenja infekcije *C.difficile*. Prema Lancetovoj studiji iz 2019. godine koja je obuhvatila 31 ustanovu u kojoj se provodi transplantacija fekalne mikrobiote u 17 zemalja Europe, u Hrvatskoj je provedeno više transplantacija nego u Češkoj, Španjolskoj i Bugarskoj, a manje nego u Italiji, Irskoj, Švicarskoj i drugim zemljama koje su također imale samo jednu ustanovu za provođenje transplantacije (55).

Od ukupno 41 transplantacije fekalne mikrobiote provedene u navedenom periodu, do izlječenja je došlo u 39,02% (n=16) slučajeva od ukupnog broja transplantacija, do potrebe za ponavljanjem transplantacije u 36,59% (n=15) slučajeva, a do subtotalne kolektomije u 4,88% (n=3) slučajeva (Slika 3.). Od ukupno 26 pacijenata uključenih u istraživanje, njih 61,54% (n=16) bilo je izliječeno transplantacijom fekalne mikrobiote. Nešto veću stopu izlječenja dokazali su rezultati istraživanja koje je također obuhvatilo uzorak samo jednog bolničkog centra, točnije od ukupno 28 pacijenata s infekcijom *C.difficile* do izlječenja nakon jedne transplantacije fekalne mikrobiote došlo je kod njih 92,8% (n=26), a kod 7,14% (n=2) bila je potrebna ponovna transplantacija (59). Stope izlječenja infekcije *C.difficile* od 90% ili više dokazuju i druga dosadašnja provedena istraživanja (60,61), no ista su prikazala objedinjene rezultate izlječenja nakon jedne ili više provedenih transplantacija.

Rezultati ovog istraživanja su dokazali da je liječenje infekcije *C.difficile* transplantacijom fekalne mikrobiote u neznatno većem postotku (90,00%) bilo uspješnije kod ispitanika ženskog spola, u usporedbi s ispitanicima muškog spola (87,50%). Međutim, nije pronađena statistički značajna razlika u uspješnosti liječenja transplantacijom fekalne mikrobiote između ispitanicima muškog i ženskog spola ($p=0,706$), čime se potvrđuje H1 istraživanja. Navedeni rezultati u skladu su s ostalim provedenim istraživanjima, koja također nisu dokazala statistički značajne razlike u uspješnosti liječenja infekcije *C.difficile* transplantacijom fekalne mikrobiote s obzirom na spol ispitanika (60,61,63,64).

Rezultati ovog istraživanja također su dokazali da je uspješnost transplantacije fekalne mikrobiote u liječenju infekcije *C.difficile* podjednaka kod ispitanika obje dobne skupine. Točnije, ishodi pacijenta nakon transplantacije fekalne mikrobiote ukazuju na to pacijenti koji imaju 65 godina ili manje (n=9) i pacijenti koji imaju više od 65 godina (n=9) u podjednakom postotku doživljavaju izlječenje kao završni ishod liječenja. U obje skupine završni ishod transplantacije je bio uspješan u 88,89% (n=8) slučajeva, a statističkom analizom nije pronađena značajna razlika između te dvije skupine (p=0,765), čime je potvrđena H2 ovog istraživanja. Također, statistička analiza uspješnosti transplantacije fekalne mikrobiote s obzirom na prisutnost komorbiditeta, dokazala je da su pacijenti koji nisu imali prisutne komorbiditete (n=5) doživjeli izlječenje u 100,00% (n=5) slučajeva, a pacijenti koji su imali jedan ili više komorbiditeta (n=13) su doživjeli izlječenje u 84,62% (n=11) slučajeva. Statističkom analizom nije pronađena značajna razlika između pacijenata koji su imali prisustvo komorbiditeta i onih koji nisu (p=0,509), čime je potvrđena H3.

Dosadašnje studije potvrđuju da nema razlika u uspješnosti transplantacije fekalne mikrobiote u liječenju infekcije *C.difficile* s obzirom na dob ili prisutne komorbiditete (65,66). Primjerice, u studiji Nowaka i sur., ukupna stopa uspješnosti transplantacije fekalne mikrobiote bila je 68% i nije dokazana statistička značajnost u Charlsonovom indeksu komorbiditeta u izliječenoj i neizliječenoj skupini ispitanika. Kod nekoliko ispitanika je uspješno izlječenje postignuto nakon više transplantacija fekalne mikrobiote, autori nisu dokazali da je potreba za ponovnom transplantacijom povezana s prisustvom komorbiditeta te su zaključili da transplantacija fekalne mikrobiote ima visoku učinkovitost bez obzira na dob i komorbiditete (65). U studiji Girotre i sur., kod starijih osoba s višestrukim komorbiditetima (dijabetes, hipertenzija, pretilost, kardiovaskularne bolesti, neurološke bolesti, kronične bolesti bubrega, hiperlipidemija, hipotireoza), dokazana je učinkovitost transplantacije fekalne mikrobiote od 93% (66). Autori su također zaključili da je transplantacija fekalne mikrobiote uspješna metoda liječenja infekcije *C.difficile* kod pacijenata starije životne dobi, bez obzira na prisutnost komorbiditeta.

8. ZAKLJUČAK

Infekcija *C.difficile* sve češće dovodi do narušenog zdravstvenog stanja populacije svih dobnih skupina, a posebice osoba starije životne dobi kod kojih je dokazano narušena fiziološka crijevna mikrobiota te nerijetko koriste antibiotike, koji dovode do disbioze. Iako je provedeno istraživanje obuhvatilo relativno mali broj ispitanika, uspješnost transplantacije fekalne mikrobiote u liječenju infekcije *C.difficile* dokazana je već kod prve primjene. Također, dokazano je da starija životna dob i prisutnost komorbiditeta ne utječu na uspješnost transplantacije fekalne mikrobiote. Međutim, postoji potreba za daljnjim istraživanjima koja će obuhvatiti veći broj ispitanika i dodatno istražiti moguće faktore koji mogu utjecati na uspješnost transplantacije fekalne mikrobiote u liječenju infekcije *C.difficile*.

Transplantacija fekalne mikrobiote dokazano je uspješna metoda liječenja svih stanja narušene ravnoteže crijevne mikrobiote, no još uvijek se nedovoljno primjenjuje u usporedbi s farmakološkim liječenjem. S ciljem daljnjeg razvoja navedene metode potrebno je istraživanjima dokazati superiornost ove metode liječenja naspram ostalih, ali i educirati te povezati multidisciplinarne timove koji sudjeluju u probiru donora, uzimanju i pripremi transplantata te provođenju same transplantacije kako bi navedena metoda bila dostupnija svim skupinama pacijenata.

9. LITERATURA

1. Rashid MU, Zaura E, Buijs MJ, Keijser BJ, Crielaard W, Nord CE et al. Determining the Long-term Effect of Antibiotic Administration on the Human Normal Intestinal Microbiota Using Culture and Pyrosequencing Methods. *Clin Infect Dis.* 2015 ;60(2):77-84.
2. Wang JW, Kuo CH, Kuo FC, Wang YK, Hsu WH, Yu FJ et al. Fecal microbiota transplantation: Review and update. *J Formos Med Assoc.* 2019;118(1):23-31.
3. Kang Y, Cai Y. Gut microbiota and obesity: implications for fecal microbiota transplantation therapy. *Hormones.* 2017;16(3):223-34.
4. Czepiel J, Drózd M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A et al. Clostridium difficile infection: review. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2019;38(7):1211-21.
5. Collado MC, Rautava S, Isolauri E, Salminen S. Gut microbiota: a source of novel tools to reduce the risk of human disease? *Pediatr Res.* 2015;77(1-2):182-8.
6. Dieterich W, Schink M, Zopf Y. Microbiota in the Gastrointestinal Tract. *Med Sci.* 2018;14;6(4):116.
7. Bäckhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peterson DA, Gordon JI. Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science.* 2005;307(5717):1915-20.
8. Sender R, Fuchs S, Milo R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biol.* 2016;14(8):1002533.
9. Poretzky R, Rodriguez-R LM, Luo C, Tsementzi D, Konstantinidis KT. Strengths and limitations of 16S rRNA gene amplicon sequencing in revealing temporal microbial community dynamics. *PLoS One.* 2014;9(4):93827.
10. Hugon P, Dufour JC, Colson P, Fournier PE, Sallah K, Raoult D. A comprehensive repertoire of prokaryotic species identified in human beings. *Lancet Infect Dis.* 2015;15(10):1211-19.
11. Li J, Jia H, Cai X, Zhong H, Feng Q, Sunagawa S et al. MetaHIT Consortium. An integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome. *Nat Biotechnol.* 2014;32(8):834-41.
12. Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Fierer N et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107(26):11971-5.
13. Tamburini S., Shen N., Wu H.C., Clemente J.C. The microbiome in early life: Implications for health outcomes. *Nat. Med.* 2016;22:713–722.

14. Bokulich N.A., Chung J., Battaglia T., Henderson N., Jay M., Li H. et al. Antibiotics, birth mode, and diet shape microbiome maturation during early life. *Sci. Transl. Med.* 2016;8:343-82.
15. Backhed F., Roswall J., Peng Y., Feng Q., Jia H., Kovatcheva-Datchary P. Dynamics and stabilization of the human gut microbiome during the first year of life. *Cell Host Microbe* ;2015:17, 852
16. Rodríguez JM, Murphy K, Stanton C, Ross RP, Kober OI, Juge N, et al. The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life. *Microb Ecol Health Dis.* 2015;26:26050.
17. Dethlefsen L, Relman DA. Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(1):4554-61.
18. Claesson MJ, Cusack S, O'Sullivan O, Greene-Diniz R, de Weerd H, Flannery E, et al. Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(1):4586-91.
19. Biagi E, Nylund L, Candela M, Ostan R, Bucci L, Pini E, et al. Through ageing, and beyond: gut microbiota and inflammatory status in seniors and centenarians. *PLoS One.* 2010;5(5):10667.
20. Claesson MJ, Jeffery IB, Conde S, Power SE, O'Connor EM, Cusack S, et al. Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly. *Nature.* 2012;488(7410):178-84.
21. Sommer F., Backhed F. The gut microbiota—Masters of host development and physiology. *Nat. Rev. Microbiol.* 2013;11:227–38.
22. Sekirov I., Russell S.L., Antunes L.C., Finlay B.B. Gut microbiota in health and disease. *Physiol. Rev.* 2010;90:859–904.
23. Dieterich W, Schuppan D, Schink M, Schwappacher R, Wirtz S, Agaimy A, et al. Influence of low FODMAP and gluten-free diets on disease activity and intestinal microbiota in patients with non-celiac gluten sensitivity. *Clin Nutr.* 2019;38(2):697-707.
24. Frank D.N., St Amand A.L., Feldman R.A., Boedeker E.C., Harpaz N., Pace N.R. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007;104:13780–85.
25. Forbes J.D., Van Domselaar G., Bernstein C.N. The Gut Microbiota in immune-mediated inflammatory diseases. *Front. Microbiol.* 2016;7:1081.

26. Kieran M. Tuohy, Karen P. Scott, Diet-Microbe Interactions in the Gut, Academic Press,2015.
27. Juge N. Microbial adhesins to gastrointestinal mucus. Trends Microbiol. 2012;20:30–39.
28. Geerlings S.Y., Kostopoulos I., de Vos W.M., Belzer C. Akkermansia muciniphila in the Human Gastrointestinal Tract: When, Where, and How? Microorganisms. 2018;6:75.
29. Chelakkot C., Ghim J., Ryu S.H. Mechanisms regulating intestinal barrier integrity and its pathological implications. Exp. Mol. Med. 2018;50:103.
30. Libertucci J., Dutta U., Kaur S., Jury J., Rossi L., Fontes M.E., et al. Inflammation-related differences in mucosa-associated microbiota and intestinal barrier function in colonic Crohn’s disease. Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 2018;315:420–31.
31. Geuking M.B., Koller Y., Rupp S., McCoy K.D. The interplay between the gut microbiota and the immune system. Gut Microbes. 2014;5:411–18.
32. O’Hara A.M., Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. EMBO Rep. 2006;7:688–93.
33. Martin C.R., Osadchiy V., Kalani A., Mayer E.A. The Brain-Gut-Microbiome Axis. Cell. Mol. Gastroenterol. Hepatol. 2018;6:133–48.
34. Maqsood R., Stone T.W. The Gut-Brain Axis, BDNF, NMDA and CNS Disorders. Neurochem. Res. 2016;41:2819–35.
35. Carabotti M., Scirocco A., Maselli M.A., Severi C. The gut-brain axis: Interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. Ann. Gastroenterol. 2015;28:203–9.
36. Louis P, Hold GL, Flint HJ. The gut microbiota, bacterial metabolites and colorectal cancer. Nat Rev Microbiol. 2014;12(10):661-72.
37. Morrison DJ, Preston T. Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism. Gut Microbes. 2016;7(3):189-200.
38. Chambers ES, Morrison DJ, Frost G. Control of appetite and energy intake by SCFA: what are the potential underlying mechanisms? Proc Nutr Soc. 2015;74(3):328-36.
39. Staley C, Weingarden AR, Khoruts A, Sadowsky MJ. Interaction of gut microbiota with bile acid metabolism and its influence on disease states. Appl Microbiol Biotechnol. 2017;101(1):47-64.

40. S. Gu, Y. Chen, X. Zhang, H. Lu, T. Lv, P. Shen, Identification of key taxa that favor intestinal colonization of *Clostridium difficile* in an adult Chinese population *Microbes Infect*; 2016;18 (1): 30-8.
41. Liubakka A, Vaughn BP. *Clostridium difficile* Infection and Fecal Microbiota Transplant. *AACN Adv Crit Care*. 2016;27(3):324-37.
42. Lessa FC, Mu Y, Bamberg WM, Beldavs ZG, Dumyati GK, Dunn JR, et al. Burden of *Clostridium difficile* infection in the United States. *N Engl J Med*. 2015;372(9):825-34.
43. Bauer, M.P. Notermans, D.W.Van Benthem, B.H.B. Brazier, J.S. Wilcox, M.H et al. *Clostridium difficile* infection in Europe: A hospital-based survey. *Lancet* 2011, 377, 63–73.
44. Suetens C, Latour K, Kärki T, Ricchizzi E, Kinross P, Moro ML, et al. The Healthcare-Associated Infections Prevalence Study Group. Prevalence of healthcare-associated infections, estimated incidence and composite antimicrobial resistance index in acute care hospitals and long-term care facilities: results from two European point prevalence surveys, 2016 to 2017. *Euro Surveill*. 2018 ;23(46):1800516.
45. Deakin LJ, Clare S, Fagan RP, Dawson LF, Pickard DJ, West MR, et al. The *Clostridium difficile* *spo0A* gene is a persistence and transmission factor. *Infect Immun*. 2012;80(8):2704-11.
46. Theriot CM, Young VB. Interactions between the gastrointestinal microbiome and *Clostridium difficile*. *Annu Rev Microbiol*. 2015;69:445–61.
47. McFarland LV. Antibiotic-associated diarrhea: epidemiology, trends and treatment. *Future Microbiol*. 2008;3:563–78.
48. Bhattacharyya M, Debnath AK, Todi SK. *Clostridium difficile* and Antibiotic-associated Diarrhea. *Indian J Crit Care Med*. 2020;24(4):162-67.
49. McDonald LC, Gerding DN, Johnson S, Bakken JS, Carroll KC, Coffin SE, et al. Clinical Practice Guidelines for *Clostridium difficile* Infection in Adults and Children: 2017 Update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA). *Clin Infect Dis*. 2018;66(7):1-48.
50. Surawicz CM, Brandt LJ, Binion DG, et al. Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* infections. *Am J Gastroenterol*. 2013;108(4):478–98.
51. Khoruts A, Dicksved J, Jansson JK, Sadowsky MJ. Changes in the composition of the human fecal microbiome after bacteriotherapy for recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *J Clin Gastroenterol*. 2010;44(5):354–60.

52. McFarland LV, Elmer GW, Surawicz CM. Breaking the cycle: treatment strategies for 163 cases of recurrent *Clostridium difficile* disease. *Am J Gastroenterol*. 2002;97:1769–75.
53. Eiseman B, Silen W, Bascom GS, Kauvar AJ. Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis. *Surgery*. 1958;44:854–59.
54. Prva transplantacija fekalne mikrobiote u Republici Hrvatskoj, dostupno na: <https://kbc-rijeka.hr/rijecki-gastroenteroloji-prvi-hrvatskoj-izveli-transplantaciju-fekalne-mikrobiote/> , pristupljeno 14.05.2022.
55. Baunwall SMD, Terveer EM, Dahlerup JF, Erikstrup C, Arkkila P, Vehreschild MJ et al. The use of Faecal Microbiota Transplantation (FMT) in Europe: A Europe-wide survey. *Lancet Reg Health Eur*. 2021;9:100181.
56. Sadowsky MJ, Khoruts A. Faecal microbiota transplantation is promising but not a panacea. *Nat Microbiol*. 2016;1:16015.
57. Choi HH, Cho YS. Fecal microbiota transplantation: current applications, effectiveness, and future perspectives. *Clin Endosc*. 2016;49:257–65.
58. McDonald LC, Gerding DN, Johnson S, Bakken JS, Carroll KC, Coffin SE, et al. Clinical Practice Guidelines for *Clostridium difficile* Infection in Adults and Children: 2017 Update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA). *Clin Infect Dis*. 2018;66(7):1-48.
59. Idrees N, Varghese C, Kurup AP302 Single centre experience of efficacy and safety of faecal microbiota transplantation for *Clostridium difficile* diarrhoea. *Gut* 2021;70:197.
60. Gough E, Shaikh H, Manges AR. Systematic Review of Intestinal Microbiota Transplantation (Fecal Bacteriotherapy) for Recurrent *Clostridium difficile* Infection. *Clin. Infect. Dis*. 2011;53(10):994–1002.
61. Ianaro G, Maida M, Burisch J, Simonelli C, Hold G, Ventimiglia M, et al. Efficacy of different faecal microbiota transplantation protocols for *Clostridium difficile* infection: a systematic review and meta-analysis. *United European Gastroenterol J* 2018;6:1232-44.
62. Merlo G, Graves N, Brain D, Connelly LB. Economic evaluation of fecal microbiota transplantation for the treatment of recurrent *Clostridium difficile* infection in Australia. *J Gastroenterol Hepatol* 2016;31:1927-32.
63. Ponte A, Pinho R, Mota M, Silva J, Vieira N, Oliveira R, et al. Fecal microbiota transplantation in refractory or recurrent *Clostridium difficile* infection: a real-life experience in a non-academic center. *Rev Esp Enferm Dig*. 2018;110(5):311-15.

64. Kelly CR, Yen EF, Grinspan AM, Kahn SA, Atreja A, Lewis JD, et al. Fecal Microbiota Transplantation Is Highly Effective in Real-World Practice: Initial Results From the FMT National Registry. *Gastroenterology*. 2021;160(1):183-92.
65. Nowak A, Hedenstierna M, Ursing J, Lidman C, Nowak P. Efficacy of Routine Fecal Microbiota Transplantation for Treatment of Recurrent *Clostridium difficile* Infection: A Retrospective Cohort Study. *Int J Microbiol.*;2019:7395127.
66. Girotra M, Garg S, Anand R, Song Y, Dutta SK: Fecal microbiota transplantation for recurrent *Clostridium difficile* infection in the elderly: long-term outcomes and microbiota changes. *Dig Dis Sci*. 2016, 61:3007-15.
67. Kelly BJ, Tebas P. Clinical practice and infrastructure review of fecal microbiota transplantation for *Clostridium difficile* infection. *Chest*. 2018;153:266–77.
68. Dubois N, Ling K, Osman M, Burns L, Mendolia G, Blackler D, et al. Prospective Assessment of Donor Eligibility for Fecal Microbiota Transplantation at a Public Stool Bank: Results From the Evaluation of 1387 Candidate Donors, *Open Forum Infectious Diseases*; 2015: 2 (1),962 – 70.
69. Paramsothy S, Borody T, Lin, E, Finlayson, S, Walsh A.J, Samuel D, Bogaerde J.V.D, Leong R.W, Connor S, Ng W. Donor Recruitment for Fecal Microbiota Transplantation. *Inflamm. Bowel Dis*. 2015,21, 1600–06.
70. Kassam Z, Lee CH, Yuan Y, Hunt RH. Fecal microbiota transplantation for *Clostridium difficile* infection: systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol*. 2013;108(4):500-8.
71. Lee CH, Steiner T, Petrof EO, Smieja M, Roscoe D, Nematallah A, et al. Frozen vs Fresh Fecal Microbiota Transplantation and Clinical Resolution of Diarrhea in Patients With Recurrent *Clostridium difficile* Infection: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2016;315(2):142-9.
72. Openbiome, From Stool Donation to Fecal Microbiota Preparation, 2021. dostupno na: <https://static1.squarespace.com/static/50e0c29ae4b0a05702af7e6a/t/6112851ea43dfb2a47768da7/1628603678547/Manufacturing-FMT.pdf> , pristupljeno 13.05.2022.
73. Prakash O. Nimonkar Y. Shouche Y.S. Practice and prospects of microbial preservation. *FEMS Microbiol.Lett*. 2012, 339, 1–9.
74. Hamilton M.J, Weingarden A.R, Sadowsky M.J, Khoruts A. Standardized Frozen Preparation for Transplantation of Fecal Microbiota for Recurrent *Clostridium difficile* Infection. *Am. J. Gastroenterol*. 2012,107, 761–67.

75. Van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, Fuentes S, Zoetendal E.G, De Vos W.M, et al. Duodenal Infusion of Donor Feces for Recurrent *Clostridium difficile*. *N. Engl. J. Med.* 2013, 368, 407–15.
76. Solari P.R, Fairchild P.G, Noa L.J, Wallace M.R. Tempered enthusiasm for fecal transplant. *Clin. Infect. Dis.* 2014, 59, 319.
77. Samuel BP, Crumb TL, Duba MM. What nurses need to know about fecal microbiota transplantation: education, assessment, and care for children and young adults. *J Pediatr Nurs.* 2014;29(4):354-61.
78. Bogdanović Crnoja T. Transplantacija fekalne mikrobiote [Diplomski rad]. Koprivnica: Sveučilište Sjever; 2022, dostupno na: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:122:388916> , pristupljeno 14.05.2022.
79. Miriam L. Boyle, Lisa A. Ruth-Sahd, Zehao Zhou; Fecal Microbiota Transplant to Treat Recurrent *Clostridium difficile* Infections. *Crit Care Nurse*: 2015; 35 (2): 51–64.
80. Fischer M, Kao D, Mehta SR, Martin T, Dimitry J, Keshteli AH, et al. Predictors of Early Failure After Fecal Microbiota Transplantation for the Therapy of *Clostridium difficile* Infection: A Multicenter Study. *Am J Gastroenterol.* 2016;111(7):1024-31.
81. Allegretti JR, Kassam Z, Osman M, Budree S, Fischer M, Kelly CR. The 5D framework: a clinical primer for fecal microbiota transplantation to treat *Clostridium difficile* infection. *Gastrointest Endosc.* 2018;87:18–29.

10. PRILOZI

| | |
|--|----|
| <u>Slika 1 - grafički prikaz broja pacijenta i izvedenih transplantacija fekalne mikrobiote po godinama</u> | 26 |
| <u>Slika 2 - grafički prikaz podjele pacijenta na dobne skupine u ovisnosti o spolu</u> | 27 |
| <u>Slika 3 - grafički prikaz ishoda transplantacije fekalne mikrobiote (%)</u> | 27 |
| <u>Slika 4 - grafički prikaz završnog ishoda pacijenata nakon transplantacija fekalne mikrobiote (%)</u> | 28 |
| <u>Slika 5 - grafički prikaz uspješnosti transplantacija fekalne mikrobiote (%)</u> | 28 |
| <u>Slika 6 - grafički prikaz uspješnosti transplantacija fekalne mikrobiote u ovisnosti o broju ponavljanja (%)</u> | 29 |
| <u>Slika 7 - grafički prikaz završnog ishoda pacijenata nakon transplantacija fekalne mikrobiote u ovisnosti o spolu pacijenata (%)</u> | 29 |
| <u>Slika 8 - grafički prikaz završnog ishoda pacijenata nakon transplantacija fekalne mikrobiote u ovisnosti o dobi pacijenata (%)</u> | 30 |
| <u>Slika 9 - grafički prikaz završnog ishoda pacijenata nakon transplantacije fekalne mikrobiote u ovisnosti o prisustvu komorbiditeta (%)</u> | 30 |
| | |
| Tablica 1. Prikaz prosječne dobi pacijenata u ovisnosti o spolu..... | 26 |

11. ŽIVOTOPIS

Zovem se Dorjana Filakovac, rođena sam 11.09.1982. godine u Rijeci. Osnovnu školu Josip Brusić pohađala sam od 1989. do 1997. godine, a zatim sam upisala srednju medicinsku školu u Rijeci smjer medicinska sestra/tehničar te istu završila 2002. godine. Po završetku srednje škole radila sam izvan struke 6 godina, a 2009. započela sam jednogodišnji pripravnički staž u Kliničkom bolničkom centru Rijeka. Iste sam godine kratko radila u Domu za nezbrinutu djecu Ivana Brlić Mažuranić, a 2010. godine zaposlila sam se u Kliničkom bolničkom centru Rijeka – Interna klinika ZZGE, intenzivna njega kao medicinska sestra.