

ROLA ŚRODOWISKA SZPITALNEGO I RĄK PERSONELU MEDYCZNEGO W SZERZENIU SIĘ ZAKAŻEŃ *CLOSTRIDIODES (CLOSTRIDIUM) DIFFICILE*

THE ROLE OF HOSPITAL ENVIRONMENT AND THE HANDS OF MEDICAL STAFF
IN THE TRANSMISSION OF *THE CLOSTRIDIODES (CLOSTRIDIUM) DIFFICILE* INFECTION

Monika Kabała, Małgorzata Aptekorz, Gajane Martirosian

Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach / Medical University of Silesia in Katowice, Katowice, Poland
Wydział Lekarski w Katowicach, Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej / School of Medicine in Katowice,
Department of Medical Microbiology

STRESZCZENIE

W artykule podjęto próbę określenia roli środowiska szpitalnego w szerzeniu się zakażeń *Clostridioides/Clostridium (C.) difficile* na podstawie przeglądu wyników badań opublikowanych w literaturze medycznej i własnych doświadczeń. *Clostridium difficile* ostatnio przyciąga coraz więcej uwagi, nie tylko jako czynnik etiologiczny rzekomobłoniastego zapalenia jelit i biegunek poantybiotykowych, ale także – ze względu na zdolność przetrwania w środowisku szpitalnym przez długi czas – jako przyczyna zakażeń związanych z opieką zdrowotną. Jest to spowodowane wytwarzaniem przez *C. difficile* przetrwalników – spor, których możliwości zwalczania są dość ograniczone. Spory *C. difficile* obecne są nie tylko na pościeli i innych przedmiotach należących do zakażonych pacjentów. Bytują także na sprzęcie medycznym i dłoniach personelu, które stanowią źródło zakażenia zarówno dla innych pacjentów, jak i dla części personelu. Wprowadzenie odpowiednich procedur higieny/mycia rąk oraz sprzątnięcia i dezynfekcji powierzchni szpitalnych umożliwia zmniejszenie liczby spor i/lub ich eradykację. Procedur tych należy skrupulatnie przestrzegać w celu ograniczenia występowania spor w środowisku szpitalnym i zapobiegania dalszemu szerzeniu się zakażeń *C. difficile* (*Clostridium difficile* infection – CDI). Monitorowanie obecności spor *C. difficile* w środowisku szpitalnym z zastosowaniem odpowiednich podłoży (C diff Banana Broth™) daje dodatkowe możliwości wyhodowania szczepów *C. difficile* i określenia rybotypów, zwłaszcza hiperepidemicznych, co jest niezwykle ważne z punktu widzenia epidemiologicznego. Med. Pr. 2019;70(6)

Słowa kluczowe: *C. difficile*, infekcje szpitalne, spory, środowisko szpitalne, higiena rąk, higiena szpitalna

ABSTRACT

This paper attempts to determine the role of the hospital environment in the spread of *Clostridioides/Clostridium (C.) difficile* infections based on a review of studies published in the medical literature and in the light of the authors' own experiences. *Clostridioides/Clostridium difficile* has recently attracted more and more attention, not only as an etiological factor of pseudomembranous intestinal inflammation and antibiotic associated diarrhea, but also as an etiological factor of healthcare-associated infections (HAI) because of the possibility to survive in the hospital environment for a long time. This is caused by the production of spores, whose eradication options are limited. *Clostridioides/Clostridium difficile* spores are present not only on bedding of infected patients and their other belongings, but also on medical equipment and the hands of medical personnel, constituting a potential source of infection for other patients and some of the staff. The introduction of appropriate procedures for hand hygiene as well as for cleaning and disinfection of hospital surfaces makes it possible to reduce the number of spores and/or eradicate them. These procedures must be strictly followed to reduce the occurrence of spores in the hospital environment and to prevent further spread of *C. difficile* infections (CDI). Monitoring the presence of the *C. difficile* spores in a hospital environment using appropriate media (C diff Banana Broth™) provides additional opportunities for culturing of *C. difficile* strains and determining ribotypes, especially hyperepidemic ones, which is extremely important from an epidemiological point of view. Med Pr. 2019;70(6)

Key words: *C. difficile*, nosocomial infection, spores, hospital environment, hands hygiene, hospital hygiene

Autorka do korespondencji / Corresponding author: Monika Kabała, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach,
Wydział Lekarski w Katowicach, Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej, ul. Medyków 18, 40-752 Katowice,
e-mail: mkabala@sum.edu.pl
Nadesłano: 10 grudnia 2018, zatwierdzono: 16 maja 2019

WSTĘP

Clostridioides/Clostridium (C.) difficile to Gram-dodatnia beztlenowa laseczka, która ma zdolność do wytwarzania form przetrwalnikowych – spor. Spory bakterii są szeroko rozpowszechnione: występują w środowiskach miejskim i wiejskim, w glebie, stojącej i płynącej wodzie – zarówno zawierającej szczątki roślin, jak i uważanej za wysoce oczyszczoną [1]. Spory *C. difficile* można znaleźć w jelitach ludzi, zwierząt domowych (koty, psy, konie itd.) i dzikich [2]. Tak powszechne występowanie spor bakterii *C. difficile* w środowisku wydaje się stosunkowo bezpieczne dla osób immunokompetentnych. Niemniej ostatnio obserwuje się narastające występowanie zakażeń pozaszpitalnych (*community acquired infection* – CAI) [3].

Clostridioides/Clostridium difficile wytwarza 2 główne duże toksyny białkowe: toksynę A – enterotoksynę, i toksynę B – cytotoksynę. Około 20% szczepów produkuje także 3 toksynę – binarną. Toksyny, działając synergistycznie, wywołują zmiany patologiczne w jelitach, skutkujące biegunką i odwodnieniem, a czasami przyjmujące bardzo poważną postać rzekomobłoniastego zapalenia jelit. Ostatnio ciężkie przypadki zakażeń są związane z pojawieniem się i szerokim rozpowszechnieniem hiperepidemicznego szczepu NAP1/BI/027, dominującego również w środowisku szpitalnym [4]. Liczba przypadków zakażeń *C. difficile* (*Clostridium difficile infection* – CDI) w Polsce przedstawiona w meldunkach epidemiologicznych Państwowego Zakładu Higieny to 11 581 w 2018 r., 11 667 – w 2017 r. oraz 8 736 – w 2016 r.; z zapadalnością na 100 tys. ludności, odpowiednio: 30,14, 30,37 i 22,73 [5].

METODY PRZEGLĄDU

Celem pracy była próba określenia na podstawie przeglądu literatury medycznej ryzyka szerzenia się CDI poprzez przedmioty nieożywione środowiska szpitalnego i ręce personelu medycznego będące źródłem spor *C. difficile*.

Dokonano przeglądu literatury w bazie PubMed oraz Google Scholar, wpisując hasła: „hospital environment and *Clostridium difficile*”, „*Clostridium difficile* spore”, „hospital cleaning”, „nosocomial infection”. Liczba uzyskanych rekordów, to, odpowiednio: 2079, 883, 4578 i 2746 (razem 10 286). Hasła wpisywano zarówno pojedynczo, jak i w kombinacjach. Prace do przeglądu wybierano z czasopism recenzowanych, spośród artykułów opublikowanych w ostatnich latach, bazujących

na badaniach istotnych liczbowo grup, w językach polskim i angielskim. Odrzucano opisy przypadków, duplikaty i artykuły kazuistyczne.

WYNIKI PRZEGLĄDU

Charakterystyka *C. difficile* i wytwarzanych spor

Clostridioides/Clostridium difficile jest głównym czynnikiem powodującym szpitalną biegunkę poantybiotykową. Rozwija się ona u 15% hospitalizowanych pacjentów poddanych antybiotykoterapii i w 20–30% przypadków jest spowodowana właśnie *C. difficile* [6]. Formy przetrwalnikowe – spory bakterii – charakteryzują się dużą opornością na stosowane w szpitalach środki dezynfekcyjne na bazie alkoholu i inne środki chemiczne, promieniowanie UV, wysokie temperatury itd. Wysoka oporność wynika z warstwowej budowy spory. Znajdujący się w środku rdzeń zawiera odwodniony cytozol, DNA, RNA oraz enzymy. Rdzeń okryty jest błoną wewnętrzną, ścianą, a następnie warstwą korową (zmodyfikowany peptydoglikan, który później będzie brał udział w powstawaniu ściany komórkowej formy wegetatywnej); na zewnątrz okryty jest płaszczem zawierającym głównie białka, kwas dipikolinowy i jony wapnia, tworzące dipikolinian wapnia [6].

Powierzchnie szpitalne są kolonizowane przez różne drobnoustroje: wirusy grypy, paragrypy, norowirusy, wirus zapalenia wątroby typu B (HBV), koronawirus powiązany z zespołem SARS; grzyby drożdżopodobne z rodzaju *Candida*, bakterie tlenowe: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus* oporny na metycylinę (*methicillin-resistant Staphylococcus aureus* – MRSA), wankomycynooporne *Enterococcus* spp. (*vancomycin-resistant Enterococcus* – VRE) oraz spory bakterii beztlenowych, w tym *C. difficile*.

Spory *C. difficile* mają dużą zdolność adhezji do różnych powierzchni, w tym do plastikowego sprzętu laboratoryjnego [7]. Mogą przeżywać na powierzchniach sprzętu szpitalnego > 5 tygodni [8], na podłodze szpitalnej do 5 miesięcy [9]. Stwierdzono, że próby przechowywania materiałów skontaminowanych przez spory w temperaturze 4°C oraz cykle zamrażania i ponownego rozmrażania także nie redukcją ich liczby [10].

Spory bakterii utrzymują się również na pościeli, w której przebywał pacjent z CDI. Badacze z Wielkiej Brytanii zwrócili uwagę na konieczność prania szpitalnej bielizny pościelowej w profesjonalnych pralniach

z zastosowaniem dużej ilości detergentów i bardzo wysokiej temperatury. Pranie w pralniach do tego nieprzystosowanych sprzyja przetrwaniu spor, co może wpłynąć na przeniesienie ich na innych pacjentów [11].

Spory występują nie tylko na wielu powierzchniach szpitalnych – znajdują się też w powietrzu, w kurzu, na stetoskopach, latarkach lekarskich, aparatach do USG, aparatach do mierzenia ciśnienia itd. [10].

W celu zminimalizowania ryzyka rozprzestrzenienia się drobnoustrojów szpitalnych większość placówek opracowuje procedury sprzątnia i dezynfekcji, które dotyczą nie tylko powierzchni szpitalnych, ale też stosowanego w placówce sprzętu. Procedur tych należy rygorystycznie przestrzegać oraz starannie je kontrolować [12].

Zagrożone powierzchnie szpitalne i środki ostrożności

Sprawując opiekę nad pacjentem z CDI, personel medyczny naraża się na zakażenie tym drobnoustrojem. Ważne jest zatem stosowanie środków ochrony bezpośredniej (rękawiczki jednorazowe, fartuchy ochronne itd.), należy jednak pamiętać, że środki te nie dają pełnej ochrony. Dłonie 24% personelu pozostają zanieczyszczone sporami *C. difficile*. Do kontaminacji w 50% przypadków dochodzi w momencie zdejmowania rękawic ochronnych. W celu uniknięcia skażenia w niektórych szpitalach zaleca się dezynfekcję rękawic wybielaczem (środek z chlorem) przed ich zdjęciem z dłoni [13].

Jedną z najważniejszych procedur zabezpieczających przed patogenami szpitalnymi jest dokładna higiena rąk. Aby pozbyć się spor *C. difficile*, nie jest jednak wskazane dezynfekowanie dłoni środkami na bazie alkoholu. Porównano higienę rąk z zastosowaniem środka dezynfekcyjnego na bazie alkoholu oraz mycia rąk mydłem pod bieżącą wodą. U pacjentów, u których rozpoznano CDI, oceniano występowanie spor przed myciem rąk i po tej czynności. Badania przeprowadzono na niewielkiej liczbie pacjentów (N = 48), których podzielono dodatkowo na 2 grupy: 1 myła dłonie z zastosowaniem środka alkoholowego, 2 stosowała wodę i mydło. Okazało się, że blisko 15% pacjentów posiadało spory bakterii na dłoniach przed wykonaniem procedury ich mycia. U większego odsetka pacjentów zaobserwowano pozostawione spory *C. difficile* przy zastosowaniu środka alkoholowego niż u tych, którzy oczyścili dłonie wodą i mydłem. Wśród pacjentów, którzy nie mieli spor bakterii na dłoniach przed oczyszczeniem rąk, odsetek tych, którzy nabyli je po myciu, był niewiel-

ki – liczba ta jest większa w przypadku zastosowania środka alkoholowego w porównaniu z grupą używającą wody z mydłem (odpowiednio: 2/21 oraz 1/20). Autorzy publikacji zaznaczyli również, że 3 pacjentów miało utrudniony dostęp do umywalk, związany z ograniczoną ruchomością. Wskazali oni jednocześnie na konieczność dalszych badań w tym kierunku [14].

Ważne są także procedury odpowiedniego sprzątnia i dezynfekcji pomieszczeń szpitalnych. Jeżeli chodzi o eradykację spor bakterii *C. difficile*, należy pamiętać, że 62-procentowy etanol, 70-procentowy izopropanol, fenol oraz czwartorzędowe związki amonowe nie są środkami sporobójczymi [10,14]. Ocenę skuteczności sprzątnia w środowisku szpitalnym prowadzi się na ogół na podstawie:

- wizualnej oceny skuteczności sprzątnia,
- oceny z wykorzystaniem znaczników fluorescencyjnych,
- oceny bioluminescencji ATP (adenozynotrójfosforan),
- oceny ilościowej żywych drobnoustrojów na powierzchniach z zastosowaniem płytek kontaktowych typu RODAC (*replicate organism detection and counting*).

Wizualna ocena to poszukiwanie zanieczyszczeń, plam czy smug pozostawionych na powierzchniach czyszczonych. Technika z zastosowaniem znacznika fluorescencyjnego polega na pokryciu powierzchni przezroczystym, niewidzialnym dla ekipy sprzątającej barwnikiem (technika ta powinna być zastosowana wybiórczo, tak by ekipa sprzątająca nie wiedziała, które powierzchnie są pokryte barwnikiem). Po sprzątnięciu ocenia się fluorescencję przy użyciu lampy UV. Technika wykorzystująca bioluminescencję ATP wymaga zastosowania aparatu pomiarowego – lumenometru. Nie nadaje się ona do poszukiwania spor bakterii, ponieważ nie zawierają one ATP. Wyniki pomiaru podaje się we względnych jednostkach świetlnych (*relative light unit* – RLU). Dobrze oczyszczone powierzchnie z małą ilością organicznego materiału powinny wykazywać < 250 jednostek RLU, powierzchnie słabo oczyszczone wykazują > 1000 RLU [15].

Ocena wizualna jest najslabszym wyznacznikiem mikrobiologicznej czystości powierzchni; wyniki oceny ze znacznikiem fluorescencyjnym oraz bioluminescencji ATP są porównywalne, ale lepsze daje ta druga technika. Na płytkach kontaktowych typu RODAC ocenia się liczbę jednostek tworzących kolonie bakterii tlenowych (*colony forming units* – CFU), powinna ona być niższa niż 2,5 CFU/cm² powierzchni. Zakłady o bardzo wysokich standardach czystości zaniżyły tę liczbę

do 1 CFU/cm²; natomiast jeżeli przekracza ona 5 CFU/cm², to sprzątanie uważa się za nieskuteczne [12]. Zastosowanie mikrobiologicznej hodowli z użyciem płytek RODAC zapewnia jednak zidentyfikowanie tylko drobnoustrojów tlenowych, uniemożliwia germinację (kiełkowanie) spor bakterii z rodzaju *Clostridium*, co prowadzi do niedoszacowania liczby bakterii [16–20]. Dlatego poszukując spor *C. difficile* w środowisku szpitalnym, należy zastosować odpowiednie dla sporujących bakterii beztlenowych metody i podłoża (np. C diff Banana Broth™, prod. Hardy Diagnostics, USA) [21]. Istnieje korelacja pomiędzy występowaniem zakażeń związanych z opieką zdrowotną (*healthcare-associated infections* – HAI) a stopniem kontaminacji powierzchni szpitalnych różnymi drobnoustrojami [22].

Zespół badaczy z Toronto [23] zaproponował w swoim 4-tygodniowym eksperymencie pojęcie powierzchni „wysokiego kontaktu” (*high touch surfaces*). Są to powierzchnie, na których często występują patogeny szpitalne, zatem powinny być poddawane szczególnie dokładnym procesom mycia i dezynfekcji. W tabeli 1 przedstawiono powierzchnie kontaktowe najczęściej ulegające kontaminacji.

W kanadyjskim projekcie badano skuteczność sprzątanego w szpitalu: poinformowano obsługę sprzątającą o projekcie, a następnie posmarowano „wysoko kontaktowe powierzchnie” przezroczystym fluorescencyjnym żelem, który świeci w lampie UV. Sprzątający nie wiedzieli, które powierzchnie zostały pokryte tym środkiem. Okazało się, że największą trudność stanowiło sprzątanie sprzętu elektronicznego, np. monitorów, komputerów czy innego wyposażenia medycznego. Personel sprzątający nie posiadał jasnych wytycznych i nie wiedział, w jaki sposób ma przeprowadzić mycie i dezynfekcję takiego sprzętu. Po przeprowadzeniu analizy eksperymentu wdrożono system szkoleń, dzięki któremu udało się uzyskać znaczną poprawę jakości sprzątania [23].

Sposoby zwalczania spor bakterii

Kontaminacja sporami bakterii jest w dużym stopniu uzależniona od występowania CDI u pacjentów przebywających w danej sali szpitalnej. Istotna jest również obecność bezobjawowych nosicieli. Aby doprowadzić do eradykacji spor ze środowiska, należy stosować dekontaminację z zastosowaniem środków do dezynfekcji

Tabela 1. Wykaz powierzchni najczęściej kolonizowanych przez patogeny szpitalne (w tym spory *Clostridioides/Clostridium difficile*)
Table 1. List of surfaces most often colonized by hospital pathogens (including spores of *Clostridioides/Clostridium difficile*)

Rodzaj powierzchni wysokiego kontaktu High touch surfaces	Piśmiennictwo* References*
Włącznik światła w łazience na oddziale / Bathroom light switch in a ward	20, 24
Zlew / Sink	22, 23, 28
Toaleta / Toilet	18, 22, 23, 28
Klamka do drzwi łazienki / Bathroom door knob	22, 24, 25
Stolik podajnikowy / Tray table	18, 22, 24, 28
Boczne poręcze przy łóżku / Side rail	18, 22–25, 28
Przycisk wzywający pielęgniarkę / Call button	18, 22–24
Telefon / Telephone	18, 22, 23
Uchwyt szuflady / Drawer handle	22
Stojak do kroplówki / IV pole	22
Krzesło dla odwiedzających / Visitor's chair	22, 25
Monitory i ich boczne powierzchnie / Monitors and their side surfaces	22, 23, 25
Pojemnik do odsysania wydzieliny / Suction canister	22
Stół pielęgnacyjny, blaty / Nursing table, countertops	22, 25
Rękaw z aparatu do mierzenia ciśnienia / Blood pressure cuff	22, 23

* Tylko w 23 i 28 stosowano metody hodowlane / Only in 23 and 28 culture methods were used.

na bazie chloru (wybielacz, zakwaszony wybielacz, podchloryn, dwutlenek chloru itd.) lub par nadtlenu wodoru (*hydrogen peroxide vapour* – HPV). Konieczne są też szkolenia personelu sprzątającego, który jest zwykle słabo zmotywowany do wdrażania wszelkich nowych procedur naprawczych [8,24].

Sprzątanie w zakładach opieki zdrowotnej ma na celu eradykację patogenów kolonizujących różne powierzchnie szpitalne. Istnieje wiele sposobów oceny skuteczności sprzątania, przy czym najsłabszym z nich, jak już wspomniano, jest wizualna ocena powierzchni sprzątanej (obecność zanieczyszczeń, pozostawienie smug czy plam materiałów biologicznych). Powierzchnia ta, skontrolowana dokładniejszymi testami (np. bioluminescencją ATP) często okazuje się nieprawidłowo oczyszczona [25].

Środowisko szpitalne zawiera wiele różnych patogenów, które mogą być źródłem zakażenia zarówno dla pacjentów, jak i dla personelu medycznego. Dlatego ważne jest wprowadzenie odpowiedniej polityki kontroli jakości sprzątania, bazującej na systemie szkoleń, w których powinien uczestniczyć nie tylko personel sprzątający, ale cały personel medyczny. Należy także motywować personel sprzątający do stosowania bezdotykowych technik dekontaminacji, jak np. zastosowanie HPV. Wdrożenie takich zaleceń znacznie zwiększa szansę na skuteczne pozbywanie się patogenów z różnych powierzchni w środowisku szpitalnym [26].

Do oceny eradykacji spor *C. difficile* z pomieszczeń, w których przebywali pacjenci z CDI, najlepsza wydaje się technika z zastosowaniem znaczników fluorescencyjnych. W procesie tym niezwykle ważne jest również przeprowadzenie izolacji pacjenta oraz uświadomienie personelu o niebezpieczeństwie kontaminacji [27]. Wprowadzenie „bezdotykowych” systemów sprzątania znacznie usprawnia proces sprzątania i może przyczynić się do spadku zakażeń związanych z opieką zdrowotną w danej placówce [28].

Wziąwszy pod uwagę omówione fakty, a także poprzednie doświadczenia [29], autorzy artykułu przeprowadzili badania środowiska szpitalnego na obecność spor bakterii z rodzaju *Clostridium* w jednej z placówek na terenie Śląska. Do badań tych użyto specjalnego podłoża bulionowego, C diff Banana Broth™, które umożliwia germinację spor [21,29]. Materiał pobierano z różnych miejsc i różnych oddziałów tego szpitala. Z 38 pobranych próbek tylko 6 (15,8%) było dodatnich, przy czym spory bakterii *C. difficile* wykryto w 4 próbkach; dodatkowo w 5 próbkach udało się wykryć spory *C. perfringens* (własne nieopublikowane dane).

WNIOSKI

1. Ponieważ środowisko szpitalne zawiera wiele różnych patogenów, w tym i spory bakterii *C. difficile*, które mogą stanowić źródło zakażenia zarówno dla pacjentów, jak i dla personelu medycznego, opracowanie i przestrzeganie odpowiednich procedur higieny szpitalnej stanowi niezbędny element w zwalczaniu HAI.
2. System szkoleń i kontrola procedur sprzątania stanowią bardzo ważny element zwalczania spor *C. difficile* w środowisku szpitalnym, służąc przerwaniu łańcucha epidemiologicznego CDI.
3. Monitorowanie obecności spor *C. difficile* w środowisku szpitalnym z zastosowaniem odpowiednich podłoży (C diff Banana Broth™) umożliwia wyhodowania szczepów *C. difficile* i określenie rybotypów, zwłaszcza hiperepidemicznych, co jest niezmiernie ważne z punktu widzenia epidemiologicznego.

PIŚMIENNICTWO

1. Janezic S., Potocnik M., Zidaric V., Rupnik M.: Highly Divergent *Clostridium difficile* Strains Isolated from the Environment. *PLoS One*. 2016;11(11):e0167101, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167101>
2. Schneeberg A., Rupnik M., Neubauer H., Seyboldt C.: Prevalence and distribution of *Clostridium difficile* PCR ribotypes in cats and dogs from animal shelters in Thuringia, Germany. *Anaerobe* 2012;18(5):484–488, <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2012.08.002>
3. Martin J.S., Monaghan T.M., Wilcox M.H.: *Clostridium difficile* infection: epidemiology, diagnosis and understanding transmission. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2016;13(4):206–216, <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2016.25>
4. Alam M.J., Walk S.T., Endres B.T., Basseres E., Khaleduzzaman M., Amadio J. i wsp.: Community Environmental Contamination of Toxigenic *Clostridium difficile*. *Open Forum Infect. Dis.* 2017;4(1):ofx018, <https://doi.org/10.1093/ofid/ofx018>
5. Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego. Państwowy Zakład Higieny [Internet]. Warszawa 2018 [cytowany 13 grudnia 2018]. Meldunki epidemiologiczne 2018, 2017, 2016. Adres: http://www.wold.pzh.gov.pl/oldpage/epimeld/index_p.html#01
6. Paredes-Sabja D., Shen A., Sorg J.A.: *Clostridium difficile* spore biology: sporulation, germination, and spore structural proteins. *Trends Microbiol.* 2014;22(7):406–416, <https://doi.org/10.1016/j.tim.2014.04.003>

7. Broukhanski G., Budyłowski P.: Laboratory plasticware – Use at your own risk: Suitability of microcentrifuge tubes for spores' analysis of *Clostridium difficile*. *Anaerobe* 2018; 55:61–66, <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2018.10.006>
8. Otter J.A., French G.L.: Survival of nosocomial bacteria and spores on surfaces and inactivation by hydrogen peroxide vapor. *J. Clin. Microbiol.* 2009;47(1):205–207, <https://doi.org/10.1128/JCM.02004-08>
9. Hota B.: Contamination, disinfection, and cross-colonization: are hospital surfaces reservoirs for nosocomial infection? *Clin. Infect. Dis.* 2004;39(8):1182–1189, <https://doi.org/10.1086/424667>
10. Weber D.J., Anderson D.J., Sexton D.J., Rutala W.A.: Role of the environment in the transmission of *Clostridium difficile* in health care facilities. *Am. J. Infect. Control.* 2013;41 Supl. 5:105–110, <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2012.12.009>
11. Tarrant J., Jenkins R.O., Laird K.T.: From ward to washer: The survival of *Clostridium difficile* spores on hospital bed sheets through a commercial UK NHS healthcare laundry process. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 2018:1–6, <https://doi.org/10.1017/ice.2018.255>
12. Sehulster L., Chinn R.Y.: Guidelines for environmental infection control in health-care facilities. Recommendations of CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). *MMWR Recomm. Rep.* 2003;52(RR-10):1–42
13. Tomas M.E., Sunkesula V.C., Kundrapu S., Wilson B.M., Donskey C.J.: An intervention to reduce health care personnel hand contamination during care of patients with *Clostridium difficile* infection. *Am. J. Infect. Control.* 2015;43(12):1366–1367, <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2015.07.017>
14. Barker A.K., Zellmer C., Tischendorf J., Duster M., Valentine S., Wright M.O. i wsp.: On the hands of patients with *Clostridium difficile*: A study of spore prevalence and the effect of hand hygiene on *C. difficile* removal. *Am. J. Infect. Control.* 2017;45(10):1154–1156, <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2017.03.005>
15. Mulvey D., Redding P., Robertson C., Woodall C., King-smore P., Bedwell D. i wsp.: Finding a benchmark for monitoring hospital cleanliness. *J. Hosp. Infect.* 2011;77(1):25–30, <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2010.08.006>
16. Malik R.E., Cooper R.A., Griffith C.J.: Use of audit tools to evaluate the efficacy of cleaning systems in hospitals. *Am. J. Infect. Control.* 2003;31(3):181–187, <https://doi.org/10.1067/mic.2003.34>
17. Dancer S.J.: How do we assess hospital cleaning? A proposal for microbiological standards for surface hygiene in hospitals. *J. Hosp. Infect.* 2004;56(1):10–15, <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2003.09.017>
18. Boyce J.M., Havill N.L., Dumigan D.G., Golebiewski M., Balogun O., Rizvani R.: Monitoring the effectiveness of hospital cleaning practices by use of an adenosine triphosphate bioluminescence assay. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 2009;30(7):678–684, <https://doi.org/10.1086/598243>
19. Luick L., Thompson P.A., Looock M., Vetter S.L., Cook J., Guerrero D.M.: Diagnostic assessment of different environmental cleaning monitoring methods. *Am. J. Infect. Control.* 2013;41(8):751–752, <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2012.09.019>
20. Gutarowska B., Piotrowska M., Żakowska Z., Gwoździński K.: Analiza przydatności metod oznaczania adenozyntrifosforanu (ATP) oraz mikroskopii fluorescencyjnej do oceny żywotności i adhezji bakterii na powierzchni bioaktywnych polimerów. *Polimery* 2012;57(3):236–245, <https://doi.org/10.14314/polimery.2012.236>
21. Srinivasa V.R., Hariri R., Frank L.R., Kingsley L., Magee E., Pokrywka M. i wsp.: Hospital-associated *Clostridium difficile* infection and reservoirs within the hospital environment. *Am. J. Infect. Control.* 2019;47(7):780–785, <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2018.12.013>
22. Griffith C.J., Cooper R.A., Gilmore J., Davies C., Lewis M.: An evaluation of hospital cleaning regimes and standards. *J. Hosp. Infect.* 2000;45(1):19–28, <https://doi.org/10.1053/jhin.1999.0717>
23. Ragan K., Khan A., Zeynalova N., McKernan P., Baser K., Muller M.P.: Use of audit and feedback with fluorescent targeting to achieve rapid improvements in room cleaning in the intensive care unit and ward settings. *Am. J. Infect. Control.* 2012;40(3):284–286, <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2011.04.003>
24. Barbut F.: How to eradicate *Clostridium difficile* from the environment. *J. Hosp. Infect.* 2015;89(4):287–295, <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2014.12.007>
25. Knape L., Hambraeus A., Lytsy B.: The adenosine triphosphate method as a quality control tool to assess 'cleanliness' of frequently touched hospital surfaces. *J. Hosp. Infect.* 2015;91(2):166–170, <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2015.06.011>
26. Havill N.: Best practices in disinfection of noncritical surfaces in the health care setting: creating a bundle for success. *Am. J. Infect. Control.* 2013;41 Supl. 5:26–30, <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2012.10.028>
27. Smith A., Taggart L.R., Lebovic G., Zeynalova N., Khan A., Muller M.P.: *Clostridium difficile* infection incidence: impact of audit and feedback programme to improve room cleaning. *J. Hosp. Infect.* 2016;92(2):161–166, <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2015.11.001>
28. Rutala W.A., Weber D.J.: Disinfectants used for environmental disinfection and new room decontamination tech-

- nology. Am. J. Infect. Control. 2013;41 Supl. 5:36–41, <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2012.11.006>
29. Martirosian G: Recovery of *Clostridium difficile* from hospital environments. J. Clin. Microbiol. 2006;44(3):1202–1203, <https://doi.org/10.1128/JCM.44.3.1202-1203.2006>