

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
"VICTOR BABEȘ" TIMIȘOARA
FACULTATEA DE MEDICINĂ
DEPARTAMENTUL XIII – BOLI INFECȚIOASE

MARINESCU ADELINA RALUCA



TEZĂ DE DOCTORAT

PARTICULARITĂȚI ALE ENTEROCOLITEI CU
CLOSTRIDIODES DIFFICILE ÎN VESTUL ROMÂNIEI:
CORELAȚII RIBOTIP/FORMĂ CLINICĂ/TRATAMENT; CO-
INFECȚIA CU SARS-CoV-2

REZUMAT

Conducător Științific
PROF. UNIV. DR. LICKER MONICA SORINA

Timișoara
2022

CUPRINS

Lista lucrărilor publicate	V
Lista abrevierilor.....	VIII
Indexul figurilor.....	IX
Indexul tabelelor.....	X
Mulțumiri	XI
INTRODUCERE.....	XII

PARTEA GENERALĂ – STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

1. Scurt istoric	1
1.1. Infecția cu <i>Clostridioides difficile</i>	5
1.2. Infecția cu SARS-CoV-2	9
2. <i>Clostridioides difficile</i> – repere fiziopatologice	17
2.1. Generalități	17
2.2. Microflora/Microbiota intestinală normală	18
2.3. Rolul toxinelor secretate de <i>Clostridioides difficile</i>	21
2.4. Biofilmul și acțiunea antibioticelor	22
3. <i>Clostridioides difficile</i> – date de ordin clinic și paraclinic	24
3.1. Tablou clinic	24
3.2. Diagnosticul de laborator	25

PARTEA SPECIALĂ

1. Obiective științifice	29
2. Material și metodă	30
3. Rezultate	38
3.1. Corelații ribotip/formă clinică/tratament	38
3.1.1. Perioada 2016-2017	40
3.1.2. Perioada 2018	52
3.2. Co-infecția cu SARS-CoV-2	61
4. Discuții	73
5. Concluzii și contribuții personale	97
BIBLIOGRAFIE	101
ANEXE	I

Cuvinte cheie: *Clostridioides difficile*, ribotip, formă clinică, tratament, co-infecția cu SARS-CoV-2

INTRODUCERE

Patologia infecțioasă, ca și alte manifestări clinice specifice ființelor vii, nu poate rămâne neschimbată, fiind supusă variatelor interacțiuni, cu numeroși factori de mediu. Asistăm la o patologie infecțioasă, mereu schimbată și actuală, care trebuie cunoscută de fiecare medic. Se realizează astfel, în fața noastră o “patomorfoză” a bolilor infecțioase care trebuie urmărită cu atenție.

Dintre factorii care au influențat în mod notabil în ultimele decenii, evoluția bolilor infecțioase, se înscriu în primul rând condițiile socio-economice, de igienă și de nutriție mult schimbate, ameliorate, dar atât de variate în funcție de sistemul socio-economic al fiecărei țări.

Răspândirea rezistenței la antibiotice în populația microbiană, în special a celei transmisibile prin factorul R de rezistență, între germeni de aceeași specie, sau de specii diferite, pune probleme deosebite în perspectivă, mai ales în terapia infecțiilor intestinale. Rezistența la antimicrobiene poate fi considerată un clișeu negativ al utilizării acestora în fiecare spital, regiune sau secția clinică a unui spital.

Circulația continuă a germenilor patogeni pe glob și transmiterea posibilă de boli infecțioase și parazitare (inclusiv cele carantinabile) reprezintă o problemă cu extindere considerabilă în viitor, care impune obligații importante de responsabilitate și cooperare internațională. Aceste măsuri sunt cu atât mai necesare, dacă ținem seama de mijloacele rapide de circulație în prezent, precum și de creșterea numărului de turiști și/sau de alți călători, la câteva sute de milioane anual. Persistența focarelor carantinabile în numeroase zone de pe glob, face oricând posibilă propagarea acestor infecții peste granițe și continente după cum s-a demonstrat în ultimii ani în cazul diferitelor boli infecțioase. Astăzi avem exemplul cel mai elocvent al infecției cu noul coronavirus SARS-CoV-2 care a devenit pandemic de aproximativ 2 ani în pofida tuturor măsurilor luate, cu consecințe multiple și grave pentru toate țările.

Este foarte important pentru un medic, indiferent de specialitatea sa, să aibă o abordare complexă a actului medical, rezultatul fiind vindecarea cât mai rapidă a pacientului și la costuri cât mai mici. De exemplu un pacient imunodeprimat prin neoplasm, tratat cu citostatice și ulterior agravat, poate să facă pe perioada internării în spital infecție cu *Clostridioides difficile* (cunoscut sub fosta denumire de *Clostridium difficile*), cu consecințe severe pentru bolnav, cu prelungirea duratei spitalizării, și costuri suplimentare [3].

O întrebare justificată este dacă ar putea fi evitate unele cazuri de infecție cu *Clostridioides difficile* (ICD). Scopul acestei teze de doctorat este să încerce descifrarea mecanismelor complexe implicate în această infecție, care reprezintă o importantă problemă de sănătate publică peste tot pe glob; de asemenea, încercăm să prezentăm și unele soluții practice, realiste, utile, în

completarea protocolului actual, luând în ecuația de diagnostic a fiecărui caz toate datele și înțelegând fiziopatogenia acestei afecțiuni cu mortalitate atât de ridicată.

În ultimul deceniu au fost semnalate o serie de schimbări în epidemiologia, simptomatologia clinică și evoluția infecției cu *C. difficile*. A crescut numărul de cazuri diagnosticate, în special la persoanele de peste 65 de ani, s-a înregistrat o creștere a ponderii formelor severe de boală, a numărului de pacienți cu recurențe ale infecției și a letalității determinate de această afecțiune. Aceste schimbări sunt datorate în special apariției în circulație a unor subtipuri hipervirulente de *C. difficile*. În plus, creșterea numărului pacienților la risc, orientarea mai frecventă către diagnosticul de infecție cu *C. difficile* și îmbunătățirea capacității de diagnostic al acestei etiologii, au contribuit la creșterea amplitudinii acestor modificări.

Patogenitatea *C. difficile* este mediată în principal prin eliberarea de două toxine, toxina A și toxina B. Aceste toxine mari (TcdA, 308 kDa, TcdB, 270 kDa) funcționează ca glucoziltransferaze care inactivează GTP-azele mici, cum ar fi Rho, Rac și Cdc42 în celule țintă eucariote [5]. Evidențierea ribotipului în cadrul acestei patologii, prin testele specifice de laborator, devine un aspect primordial atât prin creșterea ratei de succes în vindecarea bolii, cu scăderea riscului de recidivă, cât și prin administrarea țintită și nu empirică a antibioticului.

1. OBIECTIVE ȘTIINȚIFICE

Datele mai sus prezentate m-au determinat să evaluez care din următorii patru factori pot fi invocați în declanșarea episodului diareic endemic produs de *C. difficile*:

- unele condiții particulare de teren sau de context terapeutic;
- gradul de eficiență al actului diagnostic prin utilizarea testului pentru citotoxina *C. difficile*;
- apariția unor "breșe" în supravegherea stării de igienă personală și intrainstituțională;
- concretizarea unui proces de "patomorfoză" a bolilor infecțioase.

2. REZULTATE

2.1 CORELAȚII RIBOTIP/ FORMĂ CLINICĂ/ TRATAMENT

2.1.1 PERIOADA 2016-2017

În perioada ianuarie 2016-decembrie 2017 au fost spitalizați 210 pacienți cu diagnosticul de Enterocolită acută cu *C. difficile*. Toți pacienții testați au prezentat toxina *C. difficile* A/B pozitivă.

În anul 2016 au fost spitalizați un număr de 95 de bolnavi cu diagnosticul de Enterocolită cu *C. difficile*. Dacă este să ne raportăm la anul 2017 putem observa o creștere de 20 cazuri internate cu aceeași patologie, însumând 115 cazuri raportate.

Incidența acestor infecții a fost semnificativ mai mare la grupul de vârstă peste 61 de ani (însumând peste jumătate din cazuistica studiului), urmat de adulți (40-60 ani-peste 20% din cazuri). Cu toate că este apanajul vârstelor înaintate, în perioada supusă cercetării s-au înregistrat și cazuri la tineri sub 40 ani (9.47% în 2016, 5.20% în 2017).

Vârsta este considerată un factor de risc primar pentru formele comune de ICD dar și pentru formele severe.

Deoarece pacienții vârstnici sunt în prezent cei care dezvoltă cel mai frecvent ICD, sunt necesare studii suplimentare pentru a explora asocierea dintre această infecție și domeniile de comorbiditate, fragilitate și polifarmacie, care sunt trăsături intrinseci ale pacienților geriatrici admiși la spital.

Dacă este să corelăm ribotipul cu forma clinică de boală aplicând testul χ^2 pentru a vedea asocierea celor două variabile, se obține $\chi^2=5.9$ cu $n=2$ grade de libertate, iar $p\text{-value} = 0.0522 > 0.05$, motiv pentru care nu se poate trage o concluzie cu privire la asocierea celor două variabile fără corecția Cramer's $V= 0.167$, care indică o asociere slabă. În concluzie se poate afirma faptul că severitatea bolii depinde de forma de ribotip – *Tabel 1*.

Tabel 1. Corelare între forma de boală și ribotip

Ribotip	Formă boală			Total
	Ușoră	Medie	Severă	
0.27	16	8	4	28
Netestat	130	45	7	182
Total	146	53	11	210

În cadrul studiului prezent aplicând testul χ^2 pentru a vedea asocierea celor două variabile (ribotip și tratament), se obține $\chi^2= 1.55$ cu $n=2$ grade de libertate, iar $p\text{-value} = 0.46 > 0.05$, deci cele două variabile sunt independente, concluzia fiind că nu există asociere între cele două variabile – *Tabel 2*.

Tabel 2. Corelația între ribotip și tratament

<i>Tratament/Ribotip</i>	<i>Metronidazol</i>	<i>Vancomicină</i>	<i>Metronidazol + Vancomicină</i>	<i>Total</i>
0.27	15	8	5	28
Netestat	115	34	33	182
Total	130	42	38	210

Pentru a determina asocierea între cele 3 variabile (tratament, formă clinică și ribotip) s-a folosit modelul de regresie, în urma căruia se obține:

$$\text{logit}(p) = -2.34 - 0.33 \times \text{tratament} + 0.68 \times \text{formă}$$

Testul Hosmer-Lemeshow arată ca modelul logistic este unul potrivit $P=0.6859 > 0.05$ și că 86.67 % din cazuri sunt prezise corect – Tabel 3.

Tabel 3. Corelarea ribotipului cu forma clinică de boală și tratament

Formă/ tratament	Netestat			Ribotip 027		
	Metronidazol	Vancomicină	Metronidazol+ Vancomicină	Metronidazol	Vancomicină	Metronidazol+ Vancomicină
Ușor	95	21	14	13	2	0
Mediu	18	10	17	1	5	2
Sever	2	3	2	2	1	2

Aplicând testul χ^2 pentru a vedea asocierea celor două variabile (ribotip și spital de proveniență a cazurilor), se obține $\chi^2 = 36.29$ cu $n=24$ grade de libertate, iar $p\text{-value} = 0.0514 > 0.05$, motiv pentru care se aplică corecția Cramer's $V = 0.4567$, care indică o asociere medie între spitalul de proveniență și ribotip.

În ceea ce privește costul spitalizării, în anul 2016 un pacient internat în medie 10 zile însuma un cost total spitalizare de 2809 lei (analize de laborator și tratament). În discuție au fost luați în vedere pacienți cu forme moderate de boală.

În anul 2017 o spitalizare identică însuma un cost total de 4471 lei (cost aproximativ dublu într-un an). Acest lucru vine în sprijinul importanței utilizării în regim de ambulator a medicației antibiotice împotriva ICD. Actual metronidazolul și rifaximina sunt singurele antibiotice ce pot fi găsite și eliberate cu prescripție de farmaciile de specialitate.

CONCLUZII:

- incidența ICD a crescut cu 2 procente per bolnav comparativ cu perioada 2013-2014;
- în ceea ce privește distribuția pe sexe, atât în 2016 cât și în 2017 a predominat sexul feminin;
- din punct de vedere al mediului de proveniență, au predominat cazurile din mediu urban, dar cu o ușoară creștere a celor din mediul rural comparativ cu perioada 2013-2014;
- incidența ICD a fost semnificativ mai mare la pacienții cu vârstă peste 60 ani;
- vârsta este un factor de risc primar pentru formele comune de ICD, dar și pentru cele severe;

- bolile cardiovasculare au reprezentat comorbiditatea cea mai frecvent asociată cu ICD;
- există o asocierie între ribotip și severitatea ICD;
- nu s-a putut demonstra o asocierie între ribotip și tratament.

2.1.2 PERIOADA 2018

În intervalul ianuarie 2018 – decembrie 2018 au fost 207 pacienții internați în Spitalul de Boli Infecțioase și Pneumoftiziologie “Doctor Victor Babeș” Timișoara, cu diagnosticul de Enterocolită acută cu *C. difficile*.

Toți cei 207 bolnavi care au făcut parte din studiu au prezentat toxinele *C. difficile* A/B, A sau B pozitive. Ribotiparea a fost realizată în 18 cazuri. Bolnavii au reprezentat transferuri de pe diferite secții ale spitalelor medicale din partea de vest a țării. Toxina binară cu tulpina 027 a fost identificată în toate cazurile - *Figura 1*.

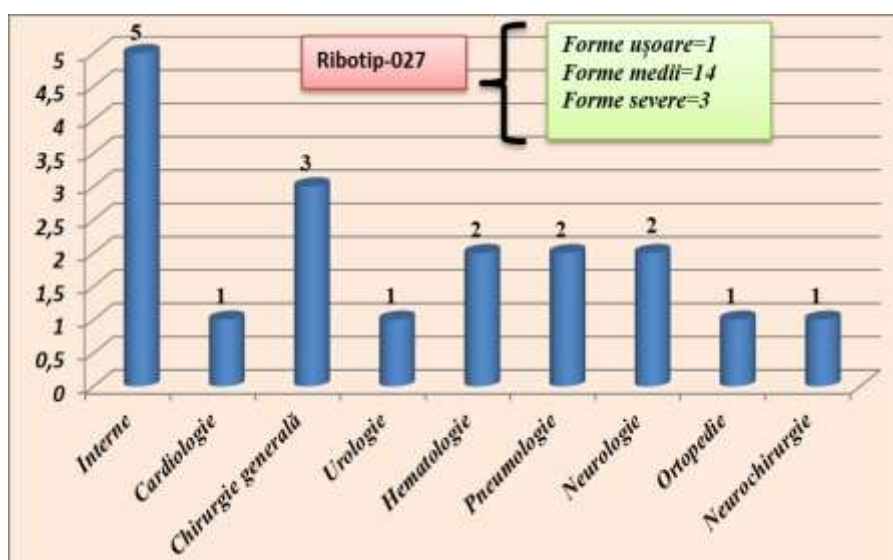


Fig. 1 Corelații între secția de proveniență a cazurilor și ribotip

Scorul ATLAS a fost elaborat pentru a prevedea vindecarea și recurența datorată ICD. Este folosit la patul bolnavului în momentul diagnosticării ICD și fiecărei variabile îi sunt atribuite 0-2 puncte. Am evaluat utilitatea acestui sistem de notare ca predictor al mortalității din cauza ICD [115].

Din cei 207 bolnavi spitalizați s-au putut observa la grupa de vârstă peste 60 de ani, 15 cazuri de ribotip 027 care coroborate cu scorul Atlas au demonstrat o formă medie/severă de boală - *Figura 2*.

De asemenea scorul ATLAS își păstrează utilitatea și pentru follow-up, respectiv, 97% dintre pacienți la 60 de zile post ICD au avut evoluție favorabilă.

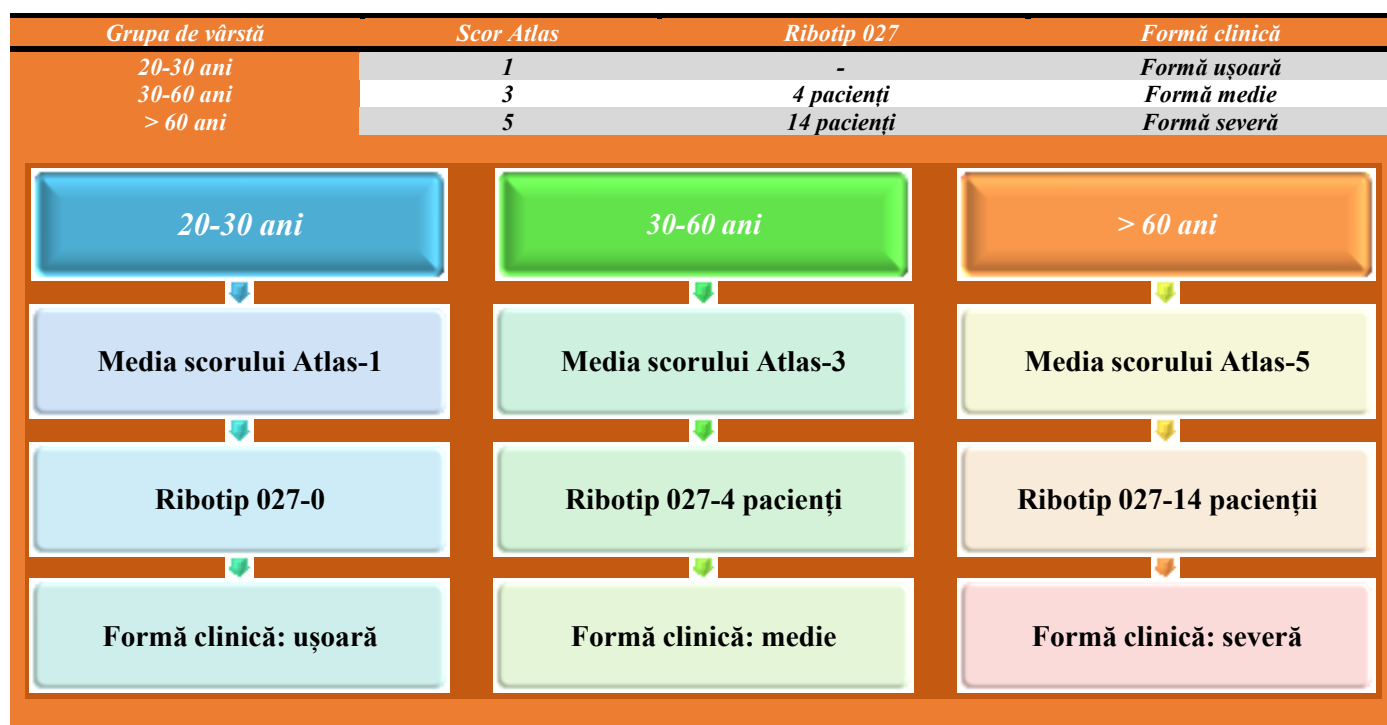


Fig. 2 Corelarea între grupa de vârstă, scor Atlas și ribotip

În ceea ce privește schema terapeutică aleasă pentru bolnavii spitalizați, 58 de pacienți (28%) au urmat tratament cu metronidazol timp de 14 zile, 93 de pacienți (45%) tratament cu vancomicină 14 zile, 34 (16%) tratament cu metronidazol și vancomicină 14 zile și 22 (11%) metronidazol în asociere cu rifaximină 21 de zile.

Corelând ribotipul cu schema terapeutică aleasă, 4 pacienți inițiați pe tratament cu metronidazol, fiind încadrați ca formă ușoară, au recidivat, făcând ulterior o formă medie de boală. Prin ribotipare s-a făcut dovada tulpinii 027, ce a răspuns ulterior favorabil la tratament cu vancomicină.

Studiile efectuate în ultimii ani au demonstrat eficiența superioară a vancomicinei comparativ metronidazolului, în plus din experiența clinică, bolnavii tratați cu vancomicină de la primul episod, prezintă un risc mai mic de recidivă [110, 111].

Ghidurile actuale recomandă inițierea de la primul episod de ICD a tratamentului cu vancomicină, inclusiv în formele ușoare de boală [116].

În cadrul acestui studiu, 3 pacienți din lot au prezentat o formă severă de infecție, coroborată cu ribotipul 027 și scorul ATLAS, ce nu au răspuns favorabil la tratament specific.

CONCLUZII:

- 83% din cazurile de ICD au fost cu origine nosocomială;
- secțiile de Medicină Internă au înregistrat cea mai mare incidență a ICD;

- 73% din cazurile de ICD au urmat tratament antibiotic anterior internării;
- toxina binară cu tulpina 027 a fost identificată în toate cazurile ribotipate;
- ribotipul 027 coroborat cu scorul Atlas a fost înalt sugestiv pentru o formă moderată/severă de ICD;
- tulpina 027 a răspuns favorabil la vancomicină.

3.2. CO-INFECȚIA CU SARS-CoV-2

Potrivit rapoartelor actuale, accentul sporit pus pe igiena mâinilor, curățarea mediului, izolarea pacienților și utilizarea echipamentului de protecție personală (EIP) în cursul anului 2020, ar fi putut duce la scăderi ale ICD asociate asistenței medicale în 2020, comparativ cu 2019 [123, 126], dar ținând cont de utilizarea largă a antibioticelor în timpul pandemiei actuale și de suprapunerea simptomelor gastrointestinale ale COVID-19, o atenție reînnoită pentru ICD este obligatorie.

Caracteristicile ICD, severitatea, managementul, precum și 30 de zile de urmărire a grupului de studiu sunt prezentate în –*Tabelul 4*.

Tabel 4. Caracteristicile ICD, severitatea, managementul, evoluția și urmărirea la 30 de zile a celor 40 de pacienți cu COVID-19 și ICD

	ICD Pacienți (n = 40)	ICD Pacienți (Procent %)
ICD cu debut intraspitalicesc	32	80
ICD comunitar asociat îngrijirilor medicale	8	20
Recidivă CDI	2	5
Diaree înaintea diagnosticului COVID-19	6	15
Diaree după diagnosticul de COVID-19	34	85
Severitatea ICD la diagnostic		
Ușor	8	20
Sever	14	35
Complicat	18	45
Tratament pentru ICD		
Vancomicină	14	35
Vancomicină și Metronidazol	4	10
Metronidazol	5	12.5
Metronidazol și Rifaximină	4	10
Vancomicină și Rifaximină	13	32.5
Follow up 30 zile de la externare		
Deces înainte de externare	9	22.5
Follow up nerealizat după externare	2	5
Pacienți urmăriți 30 de zile de la externare	26	
Recuperat acasă, fără rICD ulterior	16	40
Reinternare în spital	1	2.5
Deces, legat de ICD	2	5
Deces, nelegat de ICD	7	17.5

Legendă: rICD: episod recurent de ICD

În ceea ce privește evoluția, 11/40 (27.5%) pacienți s-au recuperat complet și au fost externați fără complicații, 18/40 (45%) au dezvoltat complicații la externare și 9/40 (22.5%) pacienți au decedat în spital. ICD a fost cauza principală de deces la doi dintre acești pacienți, în timp ce șocul septic a fost considerat principala cauză de deces la patru pacienți, urmată de insuficiența respiratorie la doi pacienți și insuficiența cardiacă la un pacient. Dintre pacienții cu COVID-19, 80% dintre cei cu ICD au fost externați la domiciliu și 26 de pacienți au fost urmăriți până la 30 de zile de la externarea din spital. Pentru pacienții rămași, nu există date disponibile.

Ribotiparea a fost efectuată prin randomizare la șase pacienți. Grupa de vârstă, forma clinică a ICD și complicațiile sunt prezentate în *Tabelul 5*.

Tabel 5. Ribotip ICD, caracteristici clinice, tratament și evoluție

		Grup ICD și COVID-19 (n = 6)
Grupe de vârstă	<40 ani	2
	40–59 ani	3
	60–70 ani	1
Ribotip	027	6
Formă clinică	ușoră	-
	severă	3
	complicată	3
Tratament	vancomicină	2
	vancomicină și rifaximină	4
Evoluție	decedat, legat de ICD	1
	recuperare la domiciliu, fără rICD ulterior	5

CONCLUZII:

- 62.5% din pacienții cu ICD și COVID-19 au fost de sex feminin;
- 95% din pacienți au fost diagnosticați cu un prim episod de ICD;
- în 85% din cazuri debutul diareei și diagnosticul ICD au urmat diagnosticului de COVID-19;
- bolile cardiovasculare s-au regăsit asociate în proporție de 67.5%;
- 75% din pacienții cu ICD și COVID-19 au consumat antibiotice anterior spitalizării;
- macrolidele au fost cele mai comune antimicrobiene administrate;
- analiza de regresie logistică a identificat administrarea antibioticelor în timpul spitalizării ca factor independent de risc;
- 48% din cazurile de ICD și COVID-19 au dezvoltat complicații;
- monitorizarea urgenței infecției cu *C. Difficile*.

CONTRIBUȚII PROPRII

- Testarea ICD la pacienții confirmați cu SARS-CoV-2 și simptomatologie digestivă;
- Monitorizarea eficienței tratamentului actual pentru ICD în populația de risc;
- Supravegherea utilizării tratamentului antibiotic empiric;
- Evaluarea factorilor de risc în apariția ICD;
- Identificarea modificărilor parametrilor sanguini determinați uzual în regim de urgență, care s-au dovedit a fi factori de risc pentru severitatea ICD;
- Calculul costurilor cu spitalizarea ICD (2016, 2017, 2021);
- S-a demonstrat că infecția cu SARS-CoV-2 aduce modificări hematologice și imunologice de natură să determine forme mai grave de ICD, dar nu este un factor de risc independent pentru riscul de mortalitate la acești pacienți.

Pornind de la evaluarea celor patru factori menționați la începutul tezei, invocați în declanșarea episodului diareic endemic produs de *C. difficile*, considerăm că gradul de eficiență al actului diagnostic rămâne util în ICD însă ribotiparea s-a dovedit real eficientă în evaluarea formei de boală și stabilirea conduitei terapeutice. Asocierea unor condiții particulare de teren, cum ar fi infecția cu SARS-CoV-2, crește susceptibilitatea individuală în apariția ICD și totodată influențează evoluția acesteia. Chiar într-o perioadă în care echipamentele de protecție au fost imperios necesare, ICD a putut crea o breșă datorită procesului de patomorfoză continuă.