



**UNIVERSITATEA „OVIDIUS” DIN CONSTANȚA
ȘCOALA DOCTORALĂ DE MEDICINĂ
DOMENIUL DE DOCTORAT: MEDICINĂ**

**STUDII ȘI CERCETĂRI PRIVIND EPIDEMIOLOGIA,
TABLOUL CLINIC ȘI TRATAMENTUL INFECȚIEI
CU CLOSTRIDIUM DIFFICILE
ÎN SUD-ESTUL ROMÂNIEI**

- REZUMAT TEZĂ DE DOCTORAT -

Conducător de doctorat:

Prof. univ. dr. Sorin RUGINĂ

Student-doctorand:

GHEORGHE (BAROIU) Liliana

CONSTANȚA - 2019

CUPRINS

Capitolul 1

STADIUL ACTUAL PRIVIND EPIDEMIOLOGIA, TABLOUL CLINIC ȘI TRATAMENTUL INFECȚIEI CU CLOSTRIDIUM DIFFICILE	4
1.1. Introducere	4
1.2. Aspecte microbiologice și epidemiologice ale infecției cu Clostridium difficile ...	4
1.3. Infecția cu Clostridium difficile – aspecte epidemiologice	5
1.4. Diagnosticul în infecția cu Clostridium difficile	5
1.4.1 Diagnostic clinic	5
1.4.2. Diagnostic paraclinic	6
1.4.3. Diagnostic imagistic și anatomopatologic	6
1.4.4. Diagnostic pozitiv	7
1.4.5. Diagnostic diferențial	7
1.5. Tratamentul infecției cu Clostridium difficile	8
1.5.1. Prevenție	8
1.5.2. Tratament	9

Capitolul 2

STUDII ȘI CERCETĂRI PRIVIND EPIDEMIOLOGIA, TABLOUL CLINIC ȘI TRATAMENTUL INFECȚIEI CU CLOSTRIDIUM DIFFICILE	12
2.1. Scopul și obiectivele tezei de doctorat	12
2.2. Studiul 1 - Diagnosticul etiologic complex al infecției cu Clostridium difficile ...	13
2.2.1. Obiective	13
2.2.2. Material și metodă	13
2.2.2.1. Imunocromatografia	13
2.2.2.2. Cultura în anaerobioză a Clostridium difficile	13
2.2.2.3. Analiza prin microscopie optică a germenilor obținuți prin cultură ...	13
2.2.2.4. Identificarea germenilor obținuți prin cultură	13
2.2.2.5. Păstrarea tulpinilor de Clostridium difficile	14
2.2.2.6. Identificare Clostridium difficile prin PCR	15
2.2.3. Discuții	16
2.2.4. Concluzii	17
2.3. Studiul 2 - Demonstrarea stabilității vancomicinei și metronidazolului în suc gastric și gastrointestinal cu ajutorul spectrelor UV-Vis	17
2.3.1. Ipoteză de lucru	17
2.3.2. Obiectiv	17
2.3.3. Material și metodă - Testarea stabilității chimice a vancomicinei și metronidazolului în suc gastric artificial și în suc gastrointestinal artificial cu ajutorul spectrelor UV-Vis	17
2.3.4. Rezultate	18
2.3.5. Discuții	19
2.3.6. Concluzii	19
2.4. Studiul 3 - Epidemiologia infecției cu Clostridium difficile în sud-estul României	19
2.4.1. Ipoteză de lucru	19
2.4.2. Obiective	20
2.4.3. Rezultate	20
2.4.4. Concluzii	21

2.5. Studiul 4 - Studiu clinico-epidemiologic al infecției cu Clostridium difficile pe un lot de 706 pacienți internați în Spitalul Clinic de Boli Infecțioase “Sf. Cuv. Parascheva” Galați în perioada 1.01.2017÷31.12.2018	22
2.5.1. Obiective	22
2.5.1.1. Etapele studiului	22
2.5.1.2. Criterii de includere în studiu	22
2.5.1.3. Criterii de excludere din studiu	22
2.5.1.4. Subloturi de studiu	23
2.5.1.5. Endpointurile studiului	23
2.5.1.6. Analiza statistică a datelor demografice	23
2.5.1.7. Caracterele demografice și profilul de comorbidități a loturilor	24
2.5.1.8. Factorii de risc incriminați în declanșarea episodului de infecție cu Clostridium difficile	26
2.5.1.9. Factorii de risc pentru mortalitate prin infecție cu Clostridium difficile	27
2.5.1.10. Parametrii clinici	27
2.5.1.11. Parametrii paraclinici	28
2.5.1.12. Scorul ATLAS	28
2.5.1.13. Parametrii de prognostic	28
2.5.1.14. Impactul factorilor demografico-clinici asupra ratei de deces post-infecție cu Clostridium difficile	29
2.5.1.15. Impactul factorilor demografico-clinici asupra numărului de zile de tratament a infecției cu Clostridium difficile	31
2.5.1.16. Impactul factorilor demografico-clinici asupra numărului de zile de spitalizare pentru un episod de infecție cu Clostridium difficile	33
2.5.1.17. Impactul factorilor demografico-clinici asupra riscului de recidivă a infecției cu Clostridium difficile	33
2.5.1.18. Analiza tipurilor de tratament	34
2.5.1.19. Analiza costurilor tratamentului infecției cu Clostridium difficile ...	34
2.5.2. Concluzii	35

Capitolul 3

ORIGINALITATEA ȘI CONTRIBUȚIILE INOVATIVE ALE TEZEI	37
--	-----------

Cuvinte cheie: infecția cu Clostridium difficile, epidemiologie, diagnostic, risc de deces, risc de recidivă, limitarea infecției

Capitolul 1

STADIUL ACTUAL PRIVIND EPIDEMIOLOGIA, TABLOUL CLINIC ȘI TRATAMENTUL INFECȚIEI CU CLOSTRIDIUM DIFFICILE

1.1. Introducere

Secolul XXI reprezintă o provocare pentru profesioniștii din Boli Infecțioase și Epidemiologie în ceea ce privește folosirea antibioticelor din prisma rezistenței microbiene în creștere, a scăderii numărului de molecule noi de antibiotice aflate în studiu și a creșterii exponențiale a numărului de cazuri de gastroenterită postantibiotice, în special cu Clostridium difficile.

Infecția cu Clostridium difficile (ICD) a fost corelată direct cu distrugerea microbiomului postantibioterapie (în special cu fluorochinolone, cefalosporine, clindamicina). CDC (Centers of Disease Control and Prevention) declara în 2011 ICD o problemă de sănătate publică și principalul efect advers postmedicamentos în spitalele din Statele Unite ale Americii [1]. Acest lucru a survenit după înregistrarea în 2011 în Statele Unite a 500.000 cazuri ICD, cu 29.000 decese în primele 30 zile de la diagnostic și cu 83.000 cazuri ce au dezvoltat recurența. De asemenea, costul unui pacient cu ICD a fost apreciat în Statele Unite la aproximativ 35.000 dolari americani, iar costul ICD pentru întreg sistemul american de sănătate la 3 miliarde de dolari [2].

Clostridium difficile este un bacil Gram pozitiv, anaerob, formator de spori, identificat prima dată în 1935 (Hall și O'Toole) în flora colonului nou-născuților sănătoși [3]. El a fost considerat nepatogen până în 1978 (Bartlett ș.a.) [4] când a fost identificat ca agent patogen al colitei pseudomembranoase la un pacient pretrat cu antibiotice. Detecția PCR (Polymerase Chain Reaction) a toxinei B a fost raportată primă dată de Gumerlock în 1993 [5], iar secvența genomică completă a CD (Clostridium difficile) a fost publicată pentru prima dată în 2005 de Sanger, UK Institute [6].

Epidemiologia bolii s-a schimbat dramatic în ultimii ani cu creșteri importante de incidență și de severitate a cazurilor raportate în Statele Unite și Europa [7], [8], [9], [10]. Această modificare a fost atribuită apariției unei tulpini hipervirulente de CD, asociată cu epidemiile din Canada, SUA, Europa [6], [11], [12] - (BI/NAP1/027), tulpină cu răspândire rapidă, cu o mutație într-un regulator negativ al producției de toxine, ceea ce a condus la o producere mai mare de toxine. Această tulpină sintetizează și o toxină suplimentară, are o capacitate sporită de a genera spori și are rezistență crescută la fluorochinolone față de tulpina istorică [11], [13].

Județul Galați se află, în 2018, în top 5 județe cu cel mai mare număr de cazuri de ICD la 100 de externări la nivel național.

În concluzie, se consideră necesară identificarea de algoritmi de diagnostic și tratament adaptați la posibilitățile și nevoile regiunii de sud-est, cu descoperirea celor mai potrivite măsuri de prevenție (din prisma abuzului de antibiotice și a transmiterii interumane), care ar putea contribui la controlul extinderii ICD.

1.2. Aspecte microbiologice ale infecției cu Clostridium difficile

Clostridium difficile este o bacterie Gram pozitivă, bacil anaerob, formator de spori, din familia Clostridiaceae, genul Clostridium ce necesită pentru cultură medii îmbogățite - agar-sânge și selective cu cicloserină, cefoxitină, agar de gălbenuș de ou, fructoză (CCFA) sau medii cromogene-chrom ID C. difficile agar (bioMérieux). În prezența oxigenului, forma vegetativă a CD poate supraviețui până la 24 de ore pe o suprafață neînsuflită, în timp ce sporii CD pot supraviețui până la 2 ani pe suprafețe neînsuflite, care sunt expuse oxigenului. Clostridium difficile este un comensal al colonului a peste 50% dintre copii cu vârstă sub un an, cifrele scăzând la aproximativ 3-5% la adulți. Această bacterie a fost izolată și din mediul ambiant (sol, apă, fân) și de la animalele domestice: bovine, cabaline, măgari, câini, pisici și rozătoare cât și de la animalele sălbatice.

Clostridium difficile are un cromozom circular care are 4.290.252 perechi de baze și o plasmidă circulară cu 7.881 perechi de baze. Transpozomii conjunctivi reprezintă aproximativ 11% din genom. Transpozomii sunt fragmente mobile de ADN care se pot muta dintr-o locație în alta în cadrul genomului. Aceste elemente mobile sunt responsabile pentru achiziționarea de către CD a unei serii extinse de gene implicate în rezistența antimicrobiană, virulența, interacțiunea cu gazda și producerea de structuri de suprafață.

Factorii implicați în virulența CD sunt adevinele, enzimele extracelulare, fimbriile, capsulă paracristalină (Karjalainen și colaboratorii și trei toxine proteice: Toxina A, Toxina B și toxina binară.

1.3. Infecția cu *Clostridium difficile* – aspecte epidemiologice

Procesul epidemiologic

Sursa de agent patogen este reprezentată de om, animalele sălbatice sau domestice care găzduiesc la nivelul tractului gastro intestinal *Clostridium difficile* (bolnavi sau purtători sănătoși).

Transmiterea se poate realiza în două moduri: modul direct este reprezentat prin transmiterea tulpinei *Clostridium difficile* între bolnavi și între aceștia și personalul medical și modul indirect este reprezentat de obiectele, inclusiv îmbrăcămintea, instrumentarul medico-sanitar, termometrele și mobilierul, care constituie o cale importantă de transmitere. Mâinile pot fi contaminate direct (inclusiv prin autocontaminare) sau indirect. Contaminarea mediului comunitar, a gospodăriilor, pare a fi relativ comună, CD a fost găsit pe cizme și pantofi [44], ceea ce sugerează o introducere din solul contaminat din afara casei, pe suprafețele bucătăriei și frigidera [45] ceea ce poate indica transferul de la produsele alimentare, la animale de producție, animale de companie și animalele sălbatice.

Receptivitatea pacienților la infecțiile determinate de *Clostridium difficile* apare în momentul în care se produce dezechilibrul relației dintre gazdă și bacterii [86]. Organismul este receptiv la infecția cu aceste microorganisme atunci când există breșe în microflora comensală a colonului (antibiot terapie, imunodepresie) sau barierele mucoase ori tegumentele sunt compromise printr-o intervenție chirurgicală, traumatism, tumoră, ischemie sau necroză, scăzând potențialele de oxidoreducere tisulare locale. Suplimentar, scăderea rezistenței generale a organismului prin vârstă, alcoolism, diabet zaharat, neoplazii, imunosupresie, angiopatii, determină o receptivitate crescută la infecțiile cu *Clostridium difficile*.

Cazuri comunitare/ nosocomiale

Infecția cu *Clostridium difficile* a fost considerată, inițial, nosocomială, ulterior au apărut cazuri la care nu s-a putut stabili un link epidemiologic cu vreo unitate de servicii medicale și s-a definit și infecția comunitară.

Definiția cazului cu expunere la un centru de asistență medicală presupune ca simptomele să apară în termen de 4 săptămâni de la externare sau la minim 48 de ore de la începutul spitalizării [88], [89], iar infecția comunitară presupune externarea dintr-o unitate medicală de minim 8 săptămâni sau fără contact dovedit cu sistemul sanitar.

1.4. Diagnostic în infecția cu *Clostridium difficile*

1.4.1. Diagnostic clinic

Manifestările clinice ale infecției cu *C. difficile* pot varia de la colonizarea asimptomatică la o infecție cu risc vital. Diagnosticul clinic de colită cu CD presupune debut nou, de minim 3 scaune pe 24 ore, neformate, gradul 6, 7 scara Bristol [130], [131]. Simptomele clinice cele mai frecvente sunt: diareea apoasă cu mucus și uneori sânge, dureri abdominale în crampe sau continue. Acestea pot fi uneori însoțite de febră, sindrom de deshidratare, greață, vărsături, inapetență, stare generală influențată [132].

În forma ușoară, *C. difficile* produce disconfort abdominal și prezintă doar colită fără pseudomembrane, manifestată prin scaune moi cu mucus, în afebrilitate.

Formele severe se pot însoți de abdomen acut sau megacolon toxic, în care apare scăderea tonusului muscular al musculaturii netede din peretele colonului, cu dilatație importantă și, eventual, perforație. Dezvoltarea unui ileus paraltic cu dilatarea colonului duce la o scădere paradoxală a diareei, însoțită de semne de șoc hipovolemic, eventual semne de abdomen acut. Diagnosticul ICD fulminant presupune debut cu formă clinică severă sau complicată, caracterizată prin hipotensiune sau șoc, ileus sau megacolon. Megacolonul toxic (TM) reprezintă dilatarea totală sau segmentară a colonului, neobstructivă, peste 6 cm diametru, asociată cu semne de toxicitate sistemică. TM a fost descris inițial în 1950 de Marshak și Lester [263], iar Jalan, în 1967 [264], definește cele trei criterii obligatorii de diagnostic:

A – radiologic - dilatare colon transvers sau ascendent peste 6 cm diametru;

B – trei criterii din următoarele - febra peste 38,6 grade Celsius, ritm cardiac peste 120/min, leucocitoză peste 10 500/ul, anemie;

C – un criteriu dintre - deshidratare, confuzie, anormalități electroliti, hipotensiune.

Formele clinice neobișnuite de ICD includ enteropatia, care pierde proteine și implicarea extracolonică.

Enteropatia care pierde proteine

Enteropatia cu hipoalbuminemie a fost descrisă în asociere cu infecția acută cu CD, în absența colitei fulminante [265, 266]. Inflamarea peretelui intestinal permite scurgerea albuminei în lumen, determinând pierderea colonică a albuminei cu sinteza hepatică compensatorie inadecvată. Drept urmare, nivelurile serice ale albuminei pot scădea sub 2,0 g / dL. Ascita și edemele periferice pot fi observate clinic. Enteropatia care pierde proteine răspunde la terapia medicală adecvată a infecției cu CD.

Afectarea extracolonică

Au fost descrise cazuri rare de apendicită cu CD, enterită a intestinului subțire și afectări extraintestinale (celulită cu CD, infecție de țesuturi moi, bactereremie și artrită reactivă [269], [272], [273]).

1.4.2. Diagnostic paraclinic

Se testează pentru CD toți pacienții cu debut nou, cu minim 3 scaune neformate (scara Bristol 6, 7), cu factori de risc pentru ICD sau cu evoluție trenantă și fără altă suspiciune etiologică. Laboratorul poate exclude de la testare mostrele de scaun normal, cu excepția studiilor epidemiologice.

Teste de laborator

Se recomandă utilizarea unui algoritm pentru testarea CD (adică GDH plus toxine, GDH plus toxine arbitrat de NAAT sau NAAT plus toxine) și selectarea probelor (laboratoarele vor lucra doar probele de scaun moale, care preiau forma recipientului) și corelație clinică (testare după stabilirea diagnosticului de diaree și după ridicarea suspiciunii pentru etiologia cu CD).

Copiii cu vârsta sub 2 ani trebuie să fie testați pentru CD numai dacă au dovezi de colită pseudomembranoasă sau megacolon toxic sau dacă au diaree semnificativă clinic și alte cauze de diaree au fost excluse. La copiii cu vârsta peste 2 ani, se recomandă testarea CD pentru pacienții cu diaree prelungită sau agravantă și cu factori de risc (de exemplu, boala inflamatorie a intestinului, imunodepresii, contactul cu sistemul de sănătate sau antibioterapie recentă).

1.4.3. Diagnostic imagistic și anatomopatologic

Aspectul anatomopatologic de colonoscopie sau necropsie este tipic, cu depozite gălbui și pseudomembrane. Microscopic, se descrie epiteliu distrus, cu arii focale de necroză, infiltrat neutrofilic la nivelul mucoasei, pseudomembrane ce conțin leucocite necrotice, fibrină, mucus și detritusuri celulare. Tomografia computerizată abdominală, ca modalitate imagistică de alegere pentru ICD, atunci când este în stadiul de colită pseudomembranoasă sau cu alte complicații, sau este suspectată asocierea unei alte patologii intra-abdominale, relevă îngroșarea peretelui colonic cel mai frecvent, ascita și neregularitatea peretelui intestinului.

La pacienții cu sepsis din cauza megacolonului, radiografia abdominală poate fi efectuată în loc de scanare CT pentru a stabili prezența megacolonului în timp util.

1.4.4. Diagnostic pozitiv

Criterii:

- Tablou clinic compatibil cu ICD și evidențierea CD toxigen în materiile fecale sau
- Colită pseudomembranoasă (endoscopic, intraoperator sau necrotic) sau
- Aspect histopatologic sugestiv la examinarea piesei operatorii sau la necropsie.

Ghidul românesc de diagnostic ICD definește tabloul clinic compatibil cu ICD astfel:

1. diaree: scaune de consistență diminuată (scala Bristol 5-7) și cu frecvență crescută;
2. ileus: vărsături și constipație asociate unei imagini radiologice sugestive de distensie enterală;
3. megacolon toxic: evidențierea radiologică a distensiei colonice și semne de SIRS sever.

1.4.5. Diagnostic diferențial

1. Infecția cu *Clostridium difficile* trebuie diferențiată de alte cauze infecțioase și neinfecțioase ale diareei. Majoritatea episoadelor diareice asociate antibioticoterapiei nu sunt atribuite infecției cu *C. difficile* (ci mai degrabă mecanismelor osmotice), în timp ce diareea asociată cu antibiotice, asociată cu colita este predominant determinată de *Clostridium difficile*.

Diareea infecțioasă – sunt descrise și alte microorganisme care au fost implicate cauzal în diareea asociată cu antibiotice și anume: *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella oxytoca*, *Clostridium perfringens* și *Salmonella* [275], [276], [277], [278], [279]. Manifestările clinice sunt similare cu cele ale infecției cu *C. difficile*; diagnosticul se efectuează prin coprocultură.

Diareea non-infecțioasă - Cauzele diareei neinfecțioase care pot imita infecția cu *C. difficile* includ sindromul intestinului iritabil postinfecțios, boala inflamatorie cronică a intestinului, boala celiacă și colita microscopică. Încetarea simptomelor de diaree la întreruperea antibioticului este o caracteristică distinctivă a diareei osmotice. Prezența febrei și leucocitozei orientează către o etiologie infecțioasă, cu CD sau alt germene.

2. Abdomenul acut - ICD poate prezenta distensie abdominală imitând ileusul intestinului subțire, sindromul Ogilvie (pseudo-obstrucție colonică), volvulus sau ischemie [274]. Abordarea diagnosticului variază în funcție de vârstă, sex și comorbidități; sunt utile date de istoric medical, examinarea fizică, consultația chirurgicală și imagistică (radiografie abdominală pe gol sau computer tomografie abdominopelvină).

3. Șocul - poate să apară hipotensiune severă în infecția fulminantă cu *Clostridium difficile* și / sau în megacolon toxic la apariția perforației intestinale cu peritonită. În plus, infecția cu CD se poate dezvolta în timpul tratamentului cu antibiotice pentru șoc septic cauzat de o infecție bacteriană separată. Șocul din alte cauze (cum ar fi șocul septic sau șocul cardiogen) trebuie diferențiat de hipotensiunea severă datorată infecției cu CD prin evaluare cardiacă și hemodinamică.

4. Sindromul intestinului iritabil postinfecțios - sindromul intestinului iritabil postinfecțios apare la aproximativ 10% dintre pacienții care au fost tratați cu succes pentru un episod inițial de *C. difficile*. Acești pacienți pot avea până la 10 scaune apoase pe zi; acest tablou clinic trebuie diferențiat de o recidivă a infecției cu CD pe baza criteriilor de diagnostic pozitiv ICD.

5. Boala inflamatorie cronică a intestinului - infecția cu *C. difficile* poate complica cursul bolii inflamatorii cronice intestinale (IBD) [280], [281].

6. Tumori benigne sau maligne de colon - diagnosticul este stabilit prin colonoscopie cu biopsie.

7. Accelerare de tranzit intestinal reactivă la medicație sau patologie asociată - este incriminată cel mai frecvent chimioterapia afecțiunilor neoplazice, se recomandă testarea imunocromatografică din scaun pentru *Clostridium difficile* a tuturor episoadelor ce îndeplinesc criterii clinice de diaree.

1.5. Tratament ICD

1.5.1. Prevenție

Măsurile de prevenție a ICD includ: măsuri de izolare, igiena mâinilor, dezinfecția mediului și un protocolul de administrare a antibioticelor.

1. *Izolarea pacienților* cu ICD sau ICD suspectată este o măsură de prevenire ce trebuie utilizată în toate instituțiile medicale, indiferent de specialitate sau epidemiologia locală. Se recomandă internarea pacienților cu ICD într-un salon cu un pat și baie proprie. Dacă există un număr limitat de saloane cu un pat, se acordă prioritate pacienților cu scaune multiple sau cu incontinență de fecale. Dacă sunt saloane cu mai multe paturi, în ele vor fi internați doar pacienți cu ICD, li se va asigura baie proprie, separată de a pacienților cu alte afecțiuni. Când saloanele cu un pat nu sunt disponibile și pacienții sunt internați în saloane cu mai multe paturi, riscul de recurență crește. Pacienții cu ICD suspectată ar trebui izolați de pacienții cu ICD diagnosticată și cu alte boli și tratați cu toate măsurile de precauție din ICD până la sosirea rezultatelor testelor de *C. difficile*.

Compartimentarea spitalului și accesibilitatea la spălarea mâinilor sunt elemente esențiale în prevenirea și controlul ICD.

Precauții de contact: folosirea de mănuși și halate lungi

Recomandarea este ca personalul medical să folosească mănuși și halate lungi la intrarea într-o cameră a unui pacient cu ICD și în timp ce îngrijește pacienții cu ICD.

Igiena mâinilor

Igiena mâinilor se efectuează înainte și după contactul cu un pacient cu ICD și după îndepărtarea mănușilor, prin spălat cu apă și săpun. Igiena mâinilor este considerată una dintre pietrele de temelie ale prevenirii transmiterii CD. Încurajarea pacienților să se spele pe mâini și să facă duș ar putea fi o strategie utilă pentru a reduce cantitatea de spori de pe piele.

Folosirea echipamentelor de unică folosință

Trebuie utilizate echipamente de unică folosință pentru pacientul cu ICD, atunci când este posibil, iar echipamentul reutilizabil trebuie curățat și dezinfectat, cu precădere, cu un dezinfectant sporicid compatibil cu echipamentul.

Dezinfecția cu substanțe sporocide

Dezinfecția terminală a salonului cu un agent sporicid trebuie utilizată în timpul perioadelor endemice sau în saloanele în care sunt internate în mod repetat cazuri de ICD.

Trebuie folosită o curățare zilnică a suprafețelor cu un agent sporicid, cu o soluție pe bază de hipoclorit sau cu șervețele de înălbire care conțin 0,55% clor activ.

Tehnologiile de dezinfecție fără atingere ce utilizează radiații ultraviolete sau vapori de peroxid de hidrogen pentru a dezinfecta mediul, sunt eficiente în reducerea cantității de spori viabili de CD din saloane [183], [184], [185]. Nici o metodologie unică (fără atingere sau altfel) nu este superioară combinațiilor de metode în ceea ce privește reducerea incidenței ICD.

Durata măsurilor de precauție în ICD

În prezent, CDC recomandă ca precauțiile de contact să fie continuate pe toată durata bolii [188].

*Identificarea purtătorilor asimptomatici de *Clostridium difficile**

Nu există date suficiente pentru a recomanda examinarea pentru transportul asimptomatic de CD și aplicarea de precauțiuni de contact purtătorilor asimptomatici.

Rolul administrării antibioticelor în controlul ratelor ICD

Trebuie minimizate frecvența și durata administrării antibioticelor cu risc ridicat, precum și asocierea de antibiotice prin implementarea unui program de administrare a antibioticelor.

Antibioticele care sunt utilizate trebuie să se bazeze pe epidemiologia locală și tulpinile CD prezente.

Restricționarea trebuie avută în vedere la: fluoroquinolone, clindamicină și cefalosporine (cu excepția profilaxiei chirurgicale cu antibiotice), carbapeneme. Multe spitale au pus în aplicare politici de administrare a antibioticelor. Beneficiile acestor programe includ rezultate îmbunătățite în terapia pacientului, evenimentele adverse reduse (inclusiv ICD), îmbunătățirea ratelor de susceptibilitate la antibiotice și optimizarea utilizării resurselor [195].

Rolul restricției inhibitorului pompei de protoni în controlul ratelor ICD

Deși există o asociere epidemiologică între utilizarea IPP și ICD și IPP-urile inutile ar trebui să fie întotdeauna întrerupte, nu există suficiente dovezi pentru întreruperea tratamentului cu IPP ca măsură de prevenire a ICD. Utilizarea de antagoniști de receptori histaminici de tip 2 au avut un risc scăzut de ICD în comparație cu utilizarea de IPP.

Rolul probioticelor în prevenirea primară din ICD

Nu există date suficiente în acest moment pentru a recomanda administrarea de probiotice pentru prevenția primară a ICD. Mai multe meta-analize indică faptul că probioticele pot fi eficiente la prevenirea ICD când sunt administrate pacienților cu antibioterapie, fără istoric de ICD [196], [197], [198], [199].

1.5.2. Tratament

Tratamentul auxiliar pentru ICD

1. Se recomandă întreruperea tratamentului cu antibiotice cât mai curând posibil, știind faptul că utilizarea lor continuă reduce răspunsul clinic și crește rata de recurență a ICD [203], [204].

2. Administrarea agenților antimotilitate digestivă la pacienții cu diaree, cum ar fi loperamidul se consideră a fi favorizantă de paraliză intestinală și apariția megacolonului toxic, așa încât se recomandă evitarea lor în terapie [205], [206].

3. Terapia cu antibiotice pentru ICD trebuie începută empiric doar în situațiile în care se estimează o întârziere substanțială (peste 48 de ore) în confirmarea de laborator sau pentru ICD fulminant.

Tratamentul episodului inițial de ICD

Obiectivele tratamentului episodului inițial de ICD sunt rezolvarea simptomelor și rezoluție susținută timp de o lună. Recomandările ghidului IDSA 2018 sunt: fie vancomicina, fie fidaxomicina pentru un episod inițial de ICD. Doza este: vancomicină 125 mg pe cale orală de 4 ori pe zi sau fidaxomicina 200 mg de două ori pe zi, 10 zile. În cazul în care accesul la vancomicină sau fidaxomicină este limitat, se utilizează metronidazolul numai pentru un episod inițial de ICD nonsever. Doza recomandată de metronidazol este 500 mg pe cale orală de 3 ori pe zi timp de 10 zile. Trebuie evitate repetarea curelor sau cura prelungită cu metronidazol din cauza riscului de cumulare și neurotoxicitate potențial ireversibilă. Dacă pacienții și-au îmbunătățit simptomele, dar nu a avut o rezoluție a simptomelor în 10 zile, se poate extinde tratamentul până la 14 zile [1].

Recomandările ghidului român de tratament sunt: metronidazol 500 mg la 8 ore, oral; 10 zile (nu se prelungește peste 14 zile datorită creșterii riscului cumulativ de neurotoxicitate); nu mai mult de 3-4 zile după remiterea simptomelor, este indicat în ICD de severitate redusă sau medie; vancomicină 125 mg la 6 ore, oral, 10-14 zile, este indicat în ICD de severitate mare.

Tratamentul ICD fulminant

1. Pentru ICD fulminant (ICD severă sau complicată, caracterizată prin hipotensiune sau șoc, ileus sau megacolon), vancomicina administrată pe cale orală este regimul de alegere. Dacă este prezent ileus, se adaugă vancomicina administrată pe rect. Doza de vancomicină este de 500 mg pe cale orală de 4 ori pe zi și 500 mg în aproximativ 100 ml soluție salină, per rect, la fiecare 6 ore, ca o clismă de retenție, asociat cu metronidazol 500 mg intravenos la fiecare 8 ore.

2. Dacă este necesar un management chirurgical pentru pacienții gravi (pacienții cu megacolon, perforarea colonului, abdomen acut, sau pentru pacienții cu șoc septic și insuficiență de organ), se va efectua colectomie subtotală cu conservarea rectului.

Bucle de deviere, ileostomă cu lavaj colonic, urmată de clisme cu vancomicină dizolvată în soluție salină este o abordare alternativă care poate duce la îmbunătățirea simptomelor. Creșterea numărului de leucocite totale peste 25 000UI/ml sau creșterea nivelului de lactat peste 5 mmol / l sunt asociate cu o mortalitate ridicată și pot fi utile în identificarea pacienților a căror speranță de supraviețuire este limitată și pentru care cea mai bună opțiune este intervenția chirurgicală precoce [222].

La pacienții la care se suspectează rezistență la vancomicină și metronidazol, se indică administrarea intravenoasă a tigeiclinei (doză de încărcare de 100 mg, urmată de 50 mg de două ori pe zi) sau imunoterapie pasivă cu imunoglobuline intravenoase (150-400 mg / kg) ce pot fi utilizate, dar nu au studii suficiente care să le susțină eficiența [216], [217], [218], [219], [220], [221].

Tratament ICD recurent

Prima recidivă - recomandările ghidului american

- se tratează o primă recurență a ICD cu vancomicină pe cale orală sub formă de cură conică sau puls, preferabil unei cure standard de 10 zile de vancomicină sau
- se tratează o primă recurență a ICD cu un curs de 10 zile de fidaxomicină, preferabil unei cure standard de 10 zile de vancomicină; sau
- se tratează o primă recurență a ICD cu un curs standard de 10 zile de vancomicină, preferabil unui al doilea curs de metronidazol, dacă metronidazolul a fost utilizat pentru episodul primar.

Oral, vancomicina ca regim cu doză conică și pulsată are următoarea schemă: după administrarea obișnuită de 125 mg de 4 ori pe zi timp de 10-14 zile, se administrează vancomicină 125 mg de 2 ori pe zi timp de o săptămână, 125 mg o dată pe zi timp de o săptămână; apoi 125 mg la 2 sau 3 zile timp de 2-8 săptămâni, în speranța că formele vegetative *C. difficile* vor fi ținute sub control în timp ce se va permite și restaurarea microbiotei normale.

Prima recidivă - recomandările ghidului român

- pentru prima recidivă: aceleași antibiotice și doze ca și la episodul inițial.

Recidive multiple

- terapie cu vancomicină pe cale orală, utilizând o terapie conică sau puls (recomandare comună ghid american și român)
- o cură standard de vancomicină orală, urmată de rifaximină - 400 mg de 3 ori pe zi, timp de 20 de zile, imediat după finalizarea terapiei standard (recomandare ghid american);
- fidaxomicină (recomandare ghid american);
- transplantul microbiologic fecal la pacienții cu recidive multiple de ICD care au eșuat tratamente antibiotice adecvate.

Mai multe probiotice, inclusiv *Saccharomyces boulardii* și specii de *Lactobacillus* au avut rezultate bune pentru prevenirea recidivelor ICD [233], [234], [235]. Cu toate acestea, încă nu a demonstrat nimeni eficacitatea semnificativă și reproductibilă în cadrul clinic controlat.

Pacienți ce necesită antibioterapie sistemică pentru alte afecțiuni decât ICD

În acest moment nu există date suficiente pentru a recomanda extinderea perioadei tratamentului sau reluarea tratamentului anti-*C. difficile* pentru pacienții care necesită tratament antibiotic continuu îndreptat împotriva infecției subiacente sau care necesită repetarea antibioticoterapiei la scurt timp după terminarea tratamentului cu ICD. Pacienții ce necesită terapie antibiotică sistemică concomitent cu tratamentul pentru ICD prezintă risc crescut de recidivă și complicațiile sale asociate [204], [228], [229]. Mulți clinicieni prelungesc durata tratamentului din ICD în astfel de cazuri, până la încheierea antibioterapiei sistemice. Doze mici pot fi suficiente pentru a preveni recurența, de exemplu, 125 mg vancomicină o dată pe zi.

Factorii care ar putea influența decizia de a începe profilaxia secundară, includ durata de timp de la tratamentul anterior ICD și caracteristicile pacientului (numărul episoadelor ICD precedente, severitatea episoadelor anterioare și fragilitatea pacientului).

Transplantul de materii fecale (TMF)

Investigațiile clinice efectuate la pacienți cu ICD recurent au arătat o perturbare semnificativă a diversității microbiene intestinale, precum și a numărului de populații bacteriene relative. Instilația scaunului prelucrat, colectat de la un donator sănătos în tractul intestinal al pacienților cu ICD recurentă, a fost utilizată cu un grad înalt de succes pentru corectarea disbiozelor intestinale cauzate de cure repetate de antibiotice [239], [240], [241], [242].

Rata de succes diferă cu modul de administrare și variază între 77% și 94% la administrarea prin intermediul intestinului subțire proximal [239], [243] și 80% -100% la instilarea fecalelor prin colon [241], [244], [245], [246], [247].

Tratamentul ICD la copii

Tratamentul unui episod inițial sau al primei recurențe a ICD, non-severe, la copii

Se recomandă fie metronidazolul, fie vancomicina în tratamentul copiilor cu un episod inițial sau prima recurență a ICD, nonsevere. Doze: Metronidazol, 10 zile per os, 7.5 mg/kg/doza, la 8 ore, doza maximă - 500 mg la 8 ore; Vancomicină, 10 mg/kg/doza, per os, la 6 ore, doza maximă - 125 mg per os la 6 ore, 10 zile.

Tratamentul episodului inițial sever de ICD la copii

Pentru copiii cu un episod inițial de ICD sever, se recomandă vancomicină, 10 zile, per os sau per rect, 10 mg/kg/doza la 6 ore, doza maxima - 500 mg la 6 ore, cu sau fără metronidazol 10 zile, IV, 10 mg/kg/doza, la 8 ore, doza maximă - 500 mg la 8 ore.

Tratamentul episodului secund sau mai mare, de ICD recurentă la copii

Pentru copiii cu un episod secund sau mai mare de recurență ICD, se recomandă administrarea de vancomicină pe cale orală – preferabil, sau metronidazol. Doze: Metronidazol, 10 zile per os, 7.5 mg/kg/doza, la 8 ore, doza maximă -500 mg la 8 ore; Vancomicină, 10 mg/kg/doza, la 6 ore, doza maximă - 125 mg per os la 6 ore, 10 zile. Pentru copiii cu o a doua recurență, care au fost tratați exclusiv cu metronidazol, se va trata cu vancomicină pe cale orală, cura standard de 10 zile.

Pentru copiii cu recidive multiple de ICD:

- Vancomicină în regim conic sau puls -10 mg/kg/doza cu maxim 125 mg la 6 ore, timp de 10-14 zile, apoi 10 mg/kg/doza cu maxim 125 mg la 12 ore, 7 zile, apoi 10 mg/kg/doza cu maxim 125 mg la 24 ore, 7 zile, apoi 10 mg/kg/doza cu maxim 125 mg la 2-3 zile, 2-8 săptămâni, sau
- Vancomicină 10 zile, urmată de rifaximină 20 zile (rifaximina nu e aprobată sub 12 ani, doza maximă 400 mg la 8 ore), sau
- Transplant de microbiotă fecală. Trebuie luat în considerare transplantul microbial fecal pentru copii și adolescenți cu recidive multiple de ICD .

Capitolul 2

STUDII ȘI CERCETĂRI PRIVIND EPIDEMIOLOGIA, TABLOUL CLINIC ȘI TRATAMENTUL INFECȚIEI CU CLOSTRIDIUM DIFFICILE

2.1. Scopul și obiectivele tezei de doctorat

Scopul tezei de doctorat

Studiul de față își propune să identifice tulpina circulantă în zona Galați, compararea numărului de cazuri cu a celorlalte județe din aria de sud-est a României și identificarea particularităților infecției în această zonă și, ulterior, posibilitatea identificării unui algoritm optim de profilaxie și tratament.

Obiectivele tezei de doctorat

1. Identificarea tulpinilor circulante în regiunea Galați.
2. Demonstrarea stabilității vancomicinei pulbere din flaconul de uz iv în suc gastric artificial și în suc gastrointestinal artificial cu ajutorul spectrelor UV-Vis, având în vedere că studiul clinic a folosit această formă farmaceutică în tratamentul per os.
3. Compararea numărului de cazuri din spitalul gazdă a studiului clinic cu a celorlalte spitale din regiune care raportează cazuri de ICD.
4. Identificarea spitalelor și a secțiilor sursă de infecție a pacienților din studiu, procentul de cazuri comunitare și cu sursă nedeterminată pentru a putea identifica măsuri profilactice adaptate și a defini extinderea infecției în comunitate.
5. Caracterizarea clinico-biologică a loturilor studiate și analiza lor statistică comparativă.
6. Cuantificarea răspunsului la tratament și a prognosticului loturilor studiate, identificarea parametrilor demografici, clinici și paraclinici care influențează durata tratamentului, riscul de deces și recidivă.
7. Elaborarea unui protocol de tratament ICD pentru Spitalul de Boli Infecțioase Galați, a unui suport de curs pentru asistenții medicali, de comunicări științifice pentru medici și a unei broșuri cu informații pentru pacient.

Pentru atingerea acestor obiective, s-au efectuat următoarele studii:

Studiul 1 - Diagnosticul etiologic complex al infecției cu Clostridium difficile la 50 pacienți pentru determinarea tulpinii circulante în regiunea Galați.

Studiul 2 - Demonstrarea stabilității vancomicinei și metronidazolului în sucul gastric și gastrointestinal cu ajutorul spectrelor UV-Vis.

Studiul 3 - Epidemiologia infecției cu Clostridium difficile în sud-estul României.

Studiul 4 - Studiul clinico-epidemiologic al infecției cu Clostridium difficile pe un lot de 706 pacienți internați în Spitalul Clinic de Boli Infecțioase "Sf. Cuv. Parascheva" Galați în perioada 1.01.2017÷31.12.2018.

S-a obținut acordul pentru efectuarea studiului clinic de la Comisia de Etică a Spitalului Clinic de Boli Infecțioase „Sf. Cuv. Parascheva” Galați și de la Comisia de Bioetică a Universității "Ovidius" din Constanța și, de asemenea, consimțământul informat de la fiecare pacient înrolat în studiu.

S-a obținut acordul managerului și a comisiei juridice a fiecărui spital pentru furnizarea numărului de cazuri de ICD, tratate în acele unități, în perioada 1.01.2017÷31.12.2018 și a procentului de cazuri asociate asistenței medicale, a spitalelor din regiunea de sud-est a României, care au raportat cazuri de ICD și anume: Spitalul Județean de Urgență „Sf. Apostol Andrei” Galați, Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii „Sf. Ioan” Galați, Spitalul de Pneumoftiziologie Galați, Spitalul Clinic Județean de Urgență „Sf. Apostol Andrei” Constanța, Spitalul Clinic de Boli Infecțioase Constanța, Spitalul Clinic de Pneumoftiziologie Constanța, Spitalul Județean de Urgență Tulcea, Spitalul Județean de Urgență Buzău, Spitalul Județean de Urgență Brăila și Spitalul Județean de Urgență „Sf. Pantelimon” Focșani.

2.2. Studiul 1 - Diagnosticul etiologic complex al infecției cu *Clostridium difficile*

2.2.1. Obiective

1. Compararea metodei de identificare prin imunocromatografie cu metoda de referință cu cea mai înaltă sensibilitate - cultura în anaerobioză și cu o metodă rapidă cu sensibilitate înaltă - detecție gene CD în scaun prin PCR, cât și obținerea de preparate pentru analiză în microscopie optică și electronică.

2. Identificarea tulpinii circulante în zona Galați, fiind cunoscut faptul că tipul tulpinii influențează severitatea episodului de boală și rata de deces prin ICD, cât și supraviețuirea tulpinii în mediul extern și consecutiv posibilitatea extinderii infecției.

2.2.2. Material și metodă

2.2.2.1. Imunocromatografia

Imunocromatografia CD din proba de scaun s-a efectuat pe teste CERTEST BIOTECH S.L., SPANIA [96].

2.2.2.2. Cultura în anaerobioză a *Clostridium difficile*

Materiile fecale, tratate sau nu cu etanol, s-au însămânțat pe plăci cu mediu cromogen (agar chromID™ *C. difficile*, bioMerieux), plăcile se introduc în pungi pentru anaerobioza (GENbag anaerob bioMerieux) și se incubează în atmosfera anaerobă, 24÷48 ore la 37 °C.

După cele 24÷48 ore de incubare se scot plăcile și se examinează.

Aspectul coloniilor suspecte de *Clostridium difficile* este de colonii gri spre negru, netede sau neregulate, figura 1.



Fig. 1. Placă cu mediu cromogen și cu mediu Columbia sânge cu colonii specifice CD

2.2.2.3. Analiza prin microscopie optică a germenilor obținuți prin cultură

S-au executat frotiuri colorate Gram pentru verificare microscopică și s-au observat bacili Gram pozitivi cu spor subterminal, figura 2.

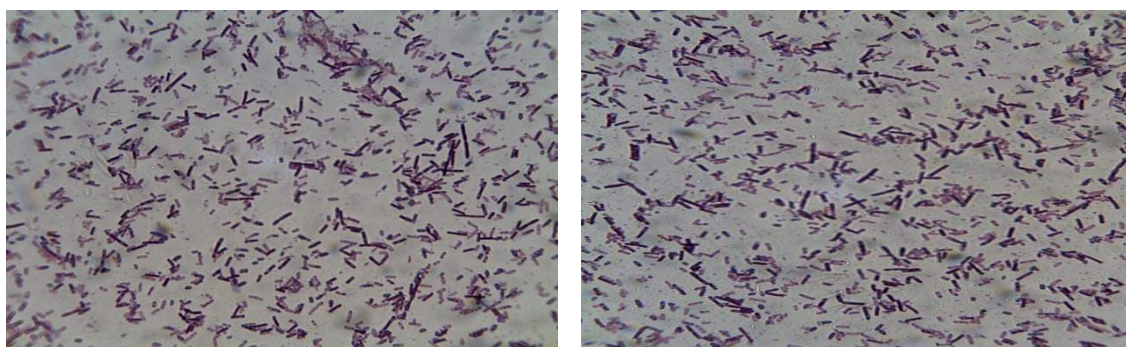


Fig. 2. Frotiuri cu bacilli Gram pozitivi sporulați efectuate din cultură în anaerobioză (microscopie optică)

2.2.2.4. Identificarea germenilor obținuți prin cultură

Din sectorul obținut pe placă cu mediu cu sânge, incubată anaerob, se fac identificări cu cardurile VITEK 2 ANC (figura 3).

2.2.2.5. Păstrarea tulpinilor de *Clostridium difficile*

Păstrarea tulpinilor obținute prin cultură pe medii cromogene și identificate cu aparatul VITEK se efectuează în bulion tioglicolat cu rezazurin (THIO-T), figura 4.

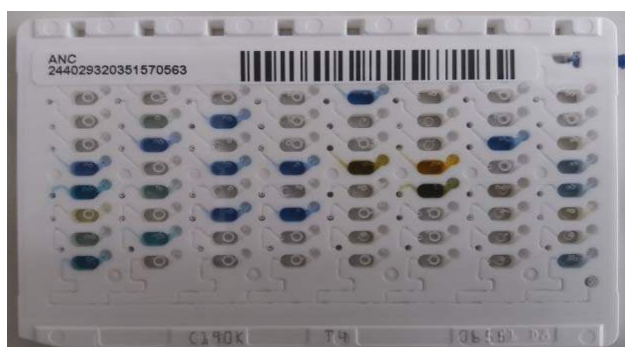


Fig. 3. Test de identificare Vitek a CD

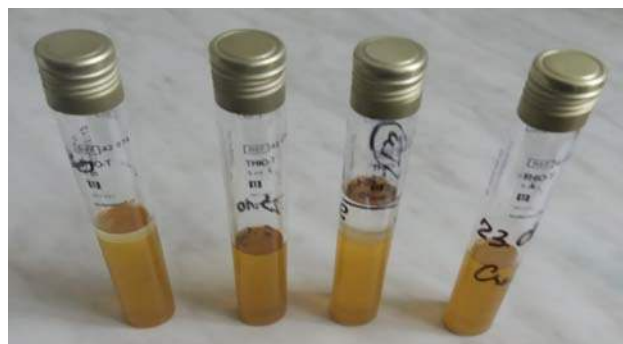


Fig. 4. Tuburi de tioglicolat pentru păstrarea tulpinilor de CD

Analiza prin microscopie electronică a bacililor identificați VITEK

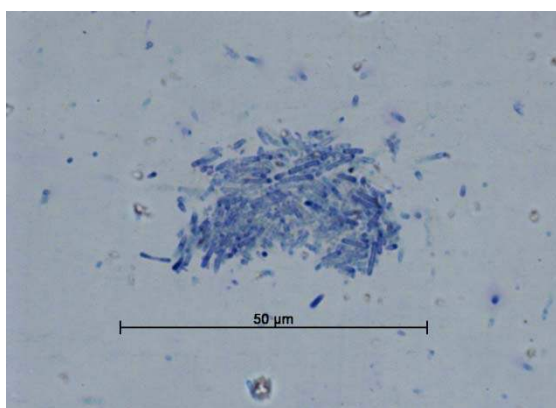


Fig. 5. Bacili sporulați de *Clostridium difficile* – imagine microscopie electronică

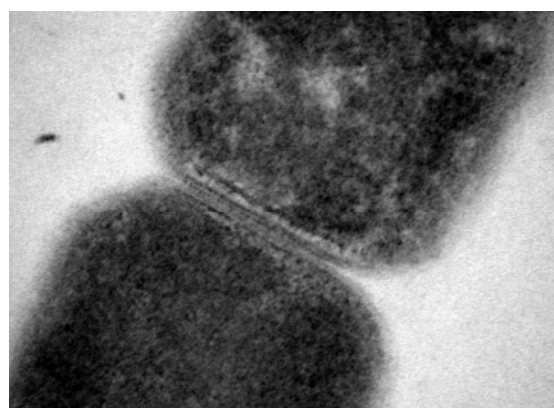


Fig. 6. Doi bacilli CD rezultați din diviziune binară – microscopie electronică

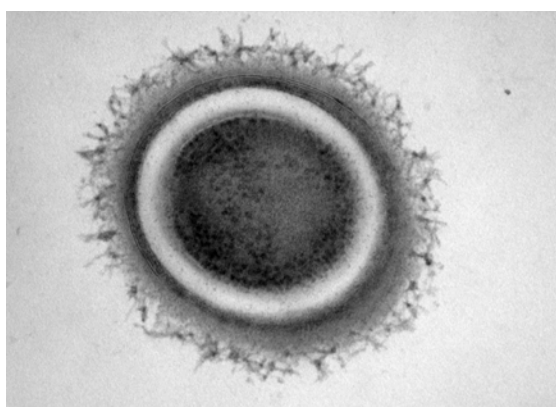


Fig. 7. Secțiune transversală bacil *Clostridium difficile* – imagine microscopie electronică; detalii structurale: pili membranari, membrană celulară, citoplasmă, organite celulare

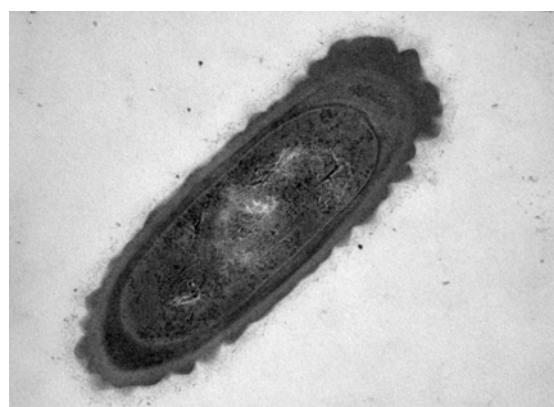


Fig. 8. Secțiune longitudinală bacil *Clostridium difficile* – imagine microscopie electronică; detalii structurale: pili membranari, membrană celulară, citoplasmă, organite celulare

Din bulionul tioglicolat, după fixare cu glutaraldehida s-au efectuat preparate ce au fost examinate prin microscopie electronică prin transmisie la Institutul Național de Cercetare-

Dezvoltare în Domeniul Patologiei și Științelor Biomedicale „Victor Babeș” București, și s-au observat bacili cu spor terminal sau subterminal, detalii de structură bacteriană (pili membranari, membrană, citoplasmă, nucleu, organite celulare, spor) și modul de multiplicare prin diviziune binară, figurile 5-8.

2.2.2.6. Identificare *Clostridium difficile* prin PCR

S-au efectuat teste Cepheid Xpert C. difficile BT, efectuate pe sistemele de instrumente Cepheid GeneXpert®, teste de diagnostic pentru depistarea rapidă a C. difficile tcdB (gena de codificare a toxinei B a CD), cdt (gena toxinei binare) și deleția unui nucleotid la poziția 117 a genei tcdC, din probe de scaun neformate (lichide sau moi) colectate de la pacienții suspecți de ICD, figura 9. Testul utilizează procedura automată real-time polymerase chain reaction (PCR) pentru a detecta tcdB, cdt și deleția tcdC la baza 117 asociată cu tulpină ribotip 027 [108]. Toxina binară este produsă de a număr limitat de tulpini de C. difficile, inclusiv tulpina 027. Toxina binară împreună cu detectarea tcdB este adesea un indicator de boală mai severă sau de reapariție a bolii.



Fig. 9. GeneXpert Instrument Systems (aparatură GeneXpert, scaner de coduri de bare, computer cu versiunea software GeneXpert, manual de utilizare, set tampon cu băț și recipient de mixare, pipeta)

La testul imunocromatografic, din 720 tulpini studiate, 611(84.86%) au fost pozitive pentru Toxina A, 552(76.66%) au fost pozitive pentru Toxina B, 523(72.23%) pozitive pentru Toxina A și B, 720 au fost pozitive pentru GDH.

Cultura în anaerobioză a fost efectuată pe un lot de 60 de tulpini care au avut imunocromatografie pozitivă pentru GDH și minim o toxină A sau B. Rezultatele au fost:

- creștere specifică pe mediu cromogen, creștere prezentă pe Columbia sânge în anaerobioză și creștere absentă pe Columbia sânge în aerobioză - 51 tulpini - 85% din total tulpini cultivate;
- creștere specifică pe mediu cromogen și creștere prezentă pe Columbia sânge în anaerobioză și pe Columbia sânge în aerobioză - 2 tulpini;
- cultură mixtă - 3 tulpini;
- creștere nespecifică pe mediul cromogen - 2 tulpini;
- fără creștere pe mediul cromogen - 2 tulpini.

Identificarea VITEK s-a efectuat pentru cele 51 de tulpini cu creștere specifică pe mediu cromogen și creștere prezentă pe Columbia sânge în anaerobioză și creștere absentă pe Columbia sânge în aerobioză și s-au obținut următoarele rezultate:

- identificare pozitivă *Clostridium difficile* – 45 tulpini - 88.23% din total tulpini introduse pentru identificare, 93.75% din total tulpini identificate;
- identificare pozitivă *Clostridium group* - 2 tulpini;
- identificare pozitivă *Clostridium sporogenes* - 1 tulpină;
- neidentificate - 3 tulpini.

Cele 45 tulpini cu identificare VITEK pozitivă pentru *Clostridium difficile* au fost analizate în microscopie optică sau electronică. Au fost vizualizați bacilli Gram pozitivi sporulați, cu spor terminal sau subterminal, cu pili pe toată suprafața membranelor și diviziune binară.

De testare PCR a beneficiat un lot de 50 de pacienți, la care s-a efectuat imunocromatografie și a ieșit pozitivă pentru GDH și minim o toxină A sau B, au fost congelate la -70 °C și lucrate în martie 2019 cu un instrument GenExpert, pentru a determina ribotipul tulpinii (027 sau nu). Rezultatele au fost: 48 teste valide (2 erori), dintre care un test cu tulpină netoxigenă, 3 teste cu tulpini toxigene altele decât 027, 44 teste cu tulpini 027 (93.61% din tulpinile toxigene).

2.2.3. Discuții

Rezultatele testului imunocromatografic, test rapid, de culoare, trebuie interpretate cu prudență. Deși producătorul afirmă o sensibilitate >95% și o specificitate >99% și recomandă repetarea probelor cu GDH negativ și toxine pozitive, despre testele slab pozitive nu precizează nimic și posibil aici, coeficientul de eroare să fie mai mare.

Efectuarea culturii în anaerobioză s-a efectuat atât pe tulpini pozitive cât și slab pozitive la testul imunocromatografic. Cultura în anaerobioză reprezintă metodă de referință, cotate cu cea mai înaltă sensibilitate dar cu specificitate joasă, cu limite datorate compoziției mediului care permite și creșterea altor microorganisme decât CD și anume: *C. tertium*, *C. clostridioforme*, *Bacteroides*, *Lactobacillus*, ce pot dezvolta colonii asemănătoare cu cele de CD, iar unele tulpini de CD, cu cerințe nutritive deosebite pot să nu crească. Specificitatea mediilor după incubare 24 ore este 92-96% și după 48 ore 96-98% [105].

Astfel studiul tulpinilor noastre a relevat doar pentru 85% din totalul tulpinilor cultivate, creștere specifică pe mediu cromogen, creștere prezentă pe Columbia sânge în anaerobioză și creștere absentă pe Columbia sânge în aerobioză. Aceste tulpini, la analiza în microscopie optică au prezentat pe lamă bacili Gram pozitivi, cu endospor terminal sau subterminal. Aceste 51 de tulpini au fost introduse în aparatul Vitek pentru identificare. Doar 45 tulpini reprezentând 88.23% din totalul tulpinilor introduse pentru identificare și 93.75% din totalul tulpinilor identificate au prezentat un rezultat cu identificare pozitivă pentru *Clostridium difficile*.

Testarea PCR s-a efectuat pentru 50 de tulpini cu imunocromatografie pozitivă pentru GDH și minim o toxină A sau B. Rezultatele au fost: 48 teste valide (2 erori), dintre care un test cu tulpină netoxigenă, 3 teste cu tulpini toxigene altele decât 027, 44 teste cu tulpini 027 (93.61% din tulpinile toxigene). Tulpina netoxigenă a prezentat creștere nespecifică pe mediul cromogen deci cel mai probabil a fost un alt germene chiar dacă testul imunocromatografic a fost pozitiv.

Tipul de tulpină de CD cel mai răspândit în SUA, a fost ribotipul 027 (28.4%), într-un studiu efectuat de CDC în 2009, iar în Anglia a avut prevalența 55% în 2007 și 21% în 2010 [152]. Această scădere de prevalență a acestei tulpini, în Anglia, a fost asociată cu scăderi semnificative ale incidenței ICD raportate și a mortalității aferente și a fost atribuită scăderii utilizării fluorochinolonei, creșterii gradului de conștientizare a ICD și a îmbunătățirii controlului ICD.

Câteva studii efectuate în România demonstrează că principala tulpină circulantă este ribotipul 027 [14], [15]. Procentul mare de tulpini 027 identificate de studiul propriu - 93.61%, atrage atenția asupra posibilității evoluției cazurilor spre forme severe cu prognostic rezervat.

Procentele mari de identificare prin metode de înaltă sensibilitate: 85% din total tulpinilor cultivate au prezentat creștere specifică pe mediu cromogen, creștere prezentă pe Columbia sânge în anaerobioză și creștere absentă pe Columbia sânge în aerobioză; 93.75% din totalul tulpinilor identificate prin Vitek au fost *Clostridium difficile*; 97.91% din tulpini au fost toxigene, ribotip 027 sau altul la identificarea PCR; justifică diagnosticul acestei infecții doar prin imunocromatografie de testare GDH și toxine A și B de primă intenție. Cazurile la care există factori de risc și argumente clinice și imunocromatografia incertă sau negativă trebuie testate și printr-un test de detecție gene CD în scaun prin PCR. Costul acestor analize reprezintă un alt argument puternic pentru alegerea imunocromatografiei ca test de primă intenție cât și faptul că este o tehnică rapidă ce oferă un rezultat în 30 de minute. Costul reactivilor pentru: un test imunocromatografic CerTest este 29.09 lei, o cultură în anaerobioză, cu identificare Vitek este 84.82 lei (incluzând doar placa cu CROMID *C. difficile*, Genbag anaerob, Vitek 2 ID ANC), și un test PCR GenExpert 208.25 lei. Costul mediu al tuturor analizelor necesare diagnosticării și monitorizării ICD, calculat pe un lot de 166 de episoade de ICD tratate în spitalul nostru în perioada 1.07.2018-31.12.2018 a fost de 266.97 lei (cu un minim de 0 lei și un maxim de 1365.93 lei și o mediană de 234.32 lei) din care investigația etiologică este 60lei, reprezentând costul unui test imunocromatografic de detecție a toxinelor A și B și GDH ale *Clostridium difficile*.

2.2.4. Concluzii

Principala tulpină de CD circulantă în zona Galați este ribotip 027 (93.61% din tulpinile toxigene). Această tulpină este cea responsabilă de epidemia din 2010-2011 din Statele Unite ale Americii și Europa, este asociată în studiile clinice cu severitate mai mare a episodului de boală și rată mai mare de deces.

Acest ribotip are capacitate sporită de secreție toxine și secretă o toxină suplimentară și anume toxina binară, are capacitate sporită de a forma spori față de tulpina istorică.

Trebuie avută prudență în interpretarea testelor imunocromatografice cu rezultate slab pozitive și în caz de necorelare clinică efectuat un test de detecție gene CD în scaun prin PCR.

Bugetul redus alocat de Casa Județeană de Asigurări de Sănătate pentru un pacient cu ICD, procentele mari de concordanță a rezultatelor imunocromatografiei cu celelalte metode de diagnostic (cultura în anaerobioză cu identificare Vitek și detecție gene CD în scaun prin PCR) și rapiditatea rezultatului prin imunocromatografie justifică indicația acestui test ca primă intenție pentru diagnosticul etiologic al ICD.

2.3. Studiul 2 - Demonstrarea stabilității vancomicinei și metronidazolului în suc gastric și gastrointestinal cu ajutorul spectrelor UV-Vis

2.3.1. Ipoteză de lucru

Acest studiu a analizat cele două antibiotice principale utilizate în terapie: metronidazol și vancomicină, dovada eficacității lor în literatura de specialitate și stabilitatea chimică a antibioticelor în lichidul gastro-intestinal simulat.

Stabilitatea chimică, fizică și microbiologică a soluției de vancomicină

Având în vedere că în România nu există disponibilă o formă farmaceutică de capsule, dar substanța activă atât din capsule, cât și din pulberea din flacoanele pentru uz iv este clorhidratul de vancomicină iar în clinică se folosește, pulberea din flaconul de uz iv, dizolvată pentru administrare orală, sunt importante detaliile de stabilitate a soluțiilor.

După reconstituire și diluare, stabilitatea chimică și fizică a produsului a fost demonstrată pentru 48 de ore la temperatura camerei ($< 25^{\circ}\text{C}$) și la temperaturi între 2°C și 8°C [300].

Din punct de vedere microbiologic medicamentul trebuie utilizat imediat. Dacă nu este utilizat imediat, perioada de păstrare nu trebuie să depășească 24 de ore la temperaturi între 2°C și 8°C și reconstituirea/diluția trebuie să se efectueze în condiții controlate și validate ca fiind aseptice [300].

2.3.2. Obiectiv

Demonstrarea stabilității chimice a pulberii de clorhidrat de vancomicină din flacoanele de uz intravenos în prezența sucului gastric și gastrointestinal și, astfel, a eficienței dozei orale administrate la pacienții cu infecție cu *Clostridium difficile*.

2.3.3. Material și metodă - Testarea stabilității chimice a vancomicinei și metronidazolului în suc gastric artificial și în suc gastrointestinal artificial cu ajutorul spectrelor UV-Vis

Stabilitatea chimică a vancomicinei și metronidazolului în condiții acide a fost evaluată utilizând lichidul gastric și gastrointestinal simulat. Lichidul gastrointestinal simulat a fost obținut prin amestecarea de volume egale a două soluții.

Prima soluție a fost obținută folosind NaCl 5 g/L și 3 g/L pepsină și pH-ul a fost ajustat la 2 (suc gastric artificial). A doua soluție a fost compusă din 5 g/L NaCl, 3 g/L pancreatină și 0,45 g/L bilă și pH-ul a fost ajustat la 8 (suc intestinal artificial). pH-ul lichidului gastrointestinal final, obținut prin amestecarea celor două soluții menționate, a fost ajustat la 2,5 (suc gastrointestinal artificial) [303]. Spectrele UV-Vis au fost înregistrate pentru soluțiile medicamentoase și soluțiile medicamentoase în condiții gastrointestinale simulate la intervale de timp diferite după amestecarea lor.

Spectrele UV-Vis ale vancomicinei și metronidazolului au fost înregistrate în soluțiile lor apoase în intervalul 170-800 nm.

2.3.4. Rezultate

Toate benzile de absorbție ale vancomicinei și metronidazolului, precum și componentele sucului gastric și gastrointestinal simulat au fost observate în domeniul UV, la momentul 0, 30 minute și 60 minute de la prepararea soluțiilor, figurile 2.34÷2.40.

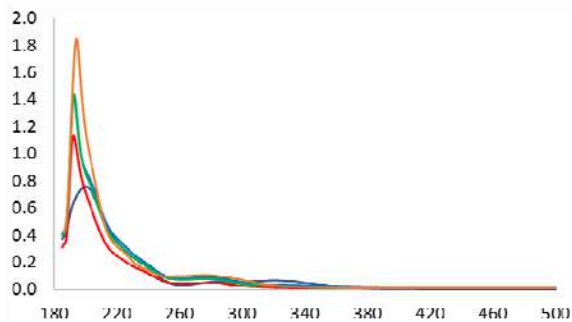


Fig. 10. Spectrele UV-Vis ale soluției de vancomicină (blumarine) în soluția cu pH2.5 (portocaliu) la momentul 0 (verde), 30 (albastru) și 60 (roșu) min.

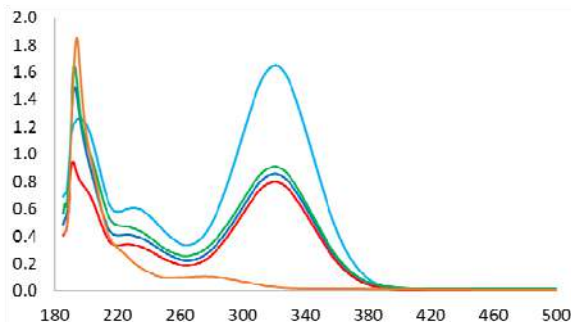


Fig. 11. Spectrele UV-Vis ale soluției de metronidazol (albastru deschis) în soluția cu pH2.5 (portocaliu) la momentul 0 (verde), 30 (albastru) și 60 (roșu) min.

Intensitatea caracteristică de absorbție a soluțiilor inițiale și mixte sunt ilustrate în tab. 2.2 și 2.3.

Tabelul 1. λ_{max} (nm) / Intensitatea absorbanței soluțiilor inițiale

Numele soluției	λ_{max} (nm) / Intensitatea absorbanței		
Suc gastric - pH2	198.0/2.2377	-	-
Suc gastrointestinal - pH2.5	194.0/1.8532	-	-
Vancomicină	-	200.0/0.7599	320.0/0.0653
Metronidazol	196.0/1.2630	230.0/0.6087	321.0/1.6505

Tabelul 2. λ_{max} (nm) / Intensitatea absorbanței soluțiilor la 0, 30 și 60 minute

Numele soluției	λ_{max} (nm) / Intensitatea absorbanței					
	Timp 0'		Timp 30'		Timp 60'	
Soluție de vancomicină amestecată cu suc gastric pH2	192.0 /1.4308	-	192.0 /1.2242	-	192.0 /1.0318	-
Soluție de metronidazol amestecată cu suc gastric pH2	192.0 /1.4321	320.0 /0.8281	192.0 /1.5989	320.0 /1.0841	192.0 /1.0706	320.0 /0.9766
Soluție de vancomicină și metronidazol amestecate cu suc gastric pH2	192.0 /1.6474	320.0 /0.8160	192.0 /1.6345	320 /1.1512	192.0 /1.1879	320.0 /1.0791
Soluție de vancomicină amestecată cu suc gastrointestinal pH2.5	192.0 /1.4328	-	192.0 /1.4296	-	192.0 /1.1377	-
Soluție de metronidazol amestecată cu suc gastrointestinal pH2.5	192 /1.6400	320 /0.9104	193.0 /1.4903	320.0 /0.8585	192.0 /0.9454	320.0 /0.8007
Soluție de vancomicină și metronidazol amestecate cu suc gastrointestinal pH2.5	193.0 /2.0166	320.0 /0.9896	193.0 /1.5125	320.0 /0.9097	200 /1.0392	320.0 /0.8292

Nu s-au observat benzi de absorbție în intervalul vizibil.

Nu se pot observa modificări semnificative sau schimbarea frecvenței benzilor de absorbție ale medicamentelor cercetate după amestecarea cu lichidul gastro-intestinal simulat.

Un efect hipsochromic [303] și o scădere a intensității absorbției a fost observată atunci când medicamentele au fost amestecate cu soluții gastrointestinale simulate, posibil datorită protonării grupărilor nucleofile ale medicamentelor în condiții acide.

2.3.5. Discuții

Singurele antibiotice folosite în Spitalul Clinic de Boli Infecțioase Galați pentru tratamentul ICD, sunt metronidazolul și vancomicina, datorită prețului ridicat al unui tratament cu fidaxomicină, nepermis de bugetul unui spital de rank 5, chiar dacă studiile clinice oferă dovezi de rată de recidivă mai mică cu acest produs.

Terapia cu metronidazol oral este rezervată doar cazurilor de severitate mică sau medie care nu au patologie asociată renală sau neurologică, limitat la o singură cură de maxim 14 zile, datorită dovezilor studiilor clinice de eficiență inferioară vancomicinei și a efectelor adverse ale antibioticului, potențial cumulative și ireversibile.

Terapia de primă intenție, conform ultimului ghid de terapie și a metaanalizei studiilor clinice de eficiență terapeutică comparativă, este cu vancomicină orală care a demonstrat eficiență superioară metronidazolului și efecte adverse mult mai mici fiind un medicament neresorbabil.

În România nu se folosesc capsulele de vancomicină orală, nefiind disponibile și se folosește pulberea de vancomicină din flacoanele de uz intravenos, dizolvată și administrată per os. Substanța activă din capsulele de vancomicină și din pulberea iv este același clorhidrat de vancomicină. Stabilitatea chimică, fizică și microbiologică a clorhidratului de vancomicină în ser fiziologic, 24 ore, la temperatura camerei, în flaconul original, a fost demonstrată de studiile din literatură mai sus menționate.

Studiul demonstrează stabilitatea chimică a vancomicinei după contactul cu suc gastric artificial și gastro-intestinal artificial, 60 minute. Aceste dovezi susțin eficiența terapeutică a dozei de vancomicină orale administrate pacienților cu ICD și posibilitatea clinicienilor de a folosi vancomicina de uz intravenos în altă indicație decât cea a producătorului în condiții de siguranță a eficienței dozei și a efectelor adverse a produsului chimic rezultat în urma solubilizării în suc gastro-intestinal.

2.3.6. Concluzii

În concluzie, pe baza spectrelor de absorbție UV-Vis, se poate considera că nu există modificări majore în structura chimică a medicamentelor investigate în prezența sucurilor gastro-duodenale, care ar putea afecta eficiența lor în tratament. Această dovadă este extrem de importantă în contextul clinic actual în care s-a folosit clorhidrat de vancomicină produs pentru administrare intravenoasă, în clinică, pentru uz oral.

2.4. Studiul 3 - Epidemiologia infecției cu *Clostridium difficile* în sud-estul României

2.4.1. Ipoteză de lucru

După bilanțul epidemiilor din Europa, Statele Unite ale Americii (SUA) și Canada, din anul 2011, infecția cu *Clostridium difficile* este considerată o problema de sănătate publică.

Incidența ICD în România a înregistrat o creștere continuă începând cu anul 2011. Sistemul de supraveghere a ICD s-a implementat la nivel național în martie 2014, populația țintă fiind reprezentată de toți pacienții internați în unitățile sanitare de stat sau private din țară. În România, în 2018 au intrat în sistemul de supraveghere a ICD un număr de 10241 cazuri confirmate, cu 2% mai multe cazuri decât în anul 2017 (10080 cazuri).

Infecția cu *Clostridium difficile* în județul Galați reprezintă o importantă problemă de sănătate publică, numărul de cazuri la 100 de externări fiind în primele 5 la nivel național, cuprins între 0.44 și 0.66, valoare maximală la nivel național, în anul 2018 [79].

2.4.2. Obiective

- Analiza numărului de cazuri, a ribotipurilor circulante, a costurilor și a ponderii infecțiilor asociate asistenței medicale, la nivel mondial, european, național și regional.
- Compararea numărului de cazuri din spitalul gazdă a studiului clinic cu a celorlalte spitale din regiune, care raportează cazuri de ICD.
- Identificarea spitalelor și a secțiilor sursă de infecție a pacienților din studiu, procentul de cazuri comunitare și cu sursă nedeterminată pentru a putea identifica măsuri profilactice adaptate și a defini extinderea infecției în comunitate.

2.4.3. Rezultate

Tabelul 3. Cazuri de ICD din principalele spitale din regiunea de sud-est a României în perioada 1.01.2017÷31.12.2018

<i>Spitalul</i>	<i>2017 Nr. total cazuri ICD</i>	<i>2017 Nr. cazuri ICD asociate asistenței medicale</i>	<i>2018 Nr. total cazuri ICD</i>	<i>2018 Nr. cazuri ICD asociate asistenței medicale</i>
Spitalul Clinic Județean de Urgență “Sf. Ap. Andrei” CT	148	118	104	92
Spitalul Clinic de Pneumoftiziologie CT	15	15	25	25
Spitalul Clinic de Boli Infecțioase CT	85	67	122	104
Spitalul Județean de Urgență “Sf. Pantelimon” Focșani - VN	194	174	165	131
Spitalului Județean de Urgență BR	138	85	203	147
Spitalului Județean de Urgență BZ	194	72	170	39
Spitalul Județean de Urgență TL	81	45	99	70
Spitalul Județean de Urgență “Sf. Ap. Andrei” GL	386	370	348	327
Spitalul de Pneumoftiziologie GL	64	61	76	74
Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii “Sf. Ioan” GL	0	0	1	1
Spitalul Clinic de Boli Infecțioase GL	375	299	345	277

Tabelul 4. Număr total de cazuri ICD / număr de paturi /procent de IAAM/ prevalență la 1000 de locuitori în județele din regiunea de sud-est a României [304]

<i>Județ</i>	<i>Număr cazuri ICD 2017 și 2018</i>	<i>Număr paturi</i>	<i>Număr(%) cazuri ICD asociate asistenței medicale</i>	<i>Număr locuitori 1.01.2016/ Incidență ICD la 1000locuitori</i>
Galați	1595	2838	1109 (69,52%)	631669/1.75
Constanța	509	4418	421 (82,71%)	769768/0.54
Buzău	364	1863	111 (30,49%)	478811/0.23
Vrancea	359	1258	305 (84,95%)	391169/0.77
Brăila	341	1777	232 (68,03%)	356196/0.65
Tulcea	180	790	115 (63,88%)	244249/0.47

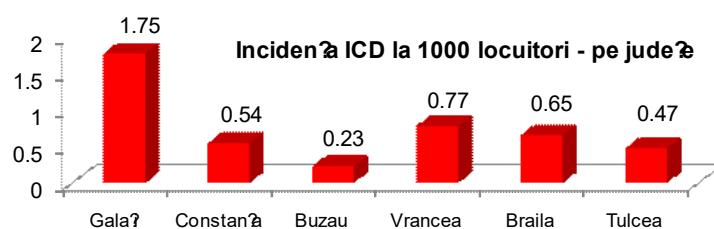


Fig. 12. Incidența ICD la 1000 locuitori – pe județe

Incidența ICD în SUA în epidemia din 2010-2011 a fost de 147.2 cazuri la 100000 de locuitori, scăzând la 130.28 cazuri la 100000 de locuitori în 2017.

În regiunea de sud-est a României în anii 2017-2018, incidența ICD a fost de 116.57 cazuri la 100000 de locuitori (calculate la populația raportată la 1.01.2016), cu un maxim în județul Galați, de 175 cazuri la 100000 de locuitori și un minim de 23 cazuri la 100000 de locuitori în județul Buzău. Județul Galați se află, în 2018, în top 5 județe cu cel mai mare număr de cazuri de ICD la 100 de externări la nivel național.

Procentul infecțiilor comunitare din total ICD în SUA în anii 2010-2011 a fost între 6-32%, cu creștere până în 2017, când a fost 51.39%.

În UE, în 2016, procentul infecțiilor comunitare din total ICD a fost 25.4%, în Canada, între anii 2005-2006, a fost 27%, iar în Australia, între anii 2010-2012, a fost 26%.

În România, în 2018, procentul infecțiilor comunitare din total ICD, a fost 19%.

În regiunea de sud-est, între anii 2017-2018, procentul infecțiilor comunitare din total ICD a fost de 31.52% cu o maximă în județul Buzău de 69.51% și o minimă în județul Vrancea de 15.05%.

În județul Galați, între anii 2017-2018, procentul infecțiilor comunitare din total ICD a fost de 30.48%, iar la Spitalul Clinic de Boli Infecțioase Galați a fost de 20%.

Costul mediu al îngrijirii unui pacient spitalizat cu ICD este în UE: 7000-7500 euro (cu date din Italia 2009-2012, Germania 2010, Anglia 2010), în SUA: 3427-9960 dolari americani (cu date din 2010-2011) și în Spitalul Clinic de Boli Infecțioase Galați: 4434.45lei (cu date din 1.07.2018-31.12.2018).

2.4.4. Concluzii

Incidența ICD în regiunea de sud-est este mai mică decât cea înregistrată în epidemia din 2010-2011 în SUA, dar cea din județul Galați depășește această cifră.

La nivel mondial, numărul total de ICD este în scădere, în România este, în continuare, în creștere, la Spitalul Clinic de Boli Infecțioase Galați obținându-se o primă scădere a numărului de cazuri în 2018. Trendul proporției infecțiilor comunitare este în creștere la nivel mondial. Se remarcă un procent de infecții comunitare în județul Galați, comparabil cu cel de la nivel regional, mai mare decât cel național și european, ceea ce atrage atenția asupra extinderii infecției în comunitate și necesitatea intensificării măsurilor de profilaxie ICD în medicina primară.

Costul tratamentului unui bolnav spitalizat cu ICD este ridicat, chiar dacă în Spitalul Clinic de Boli Infecțioase Galați, acesta este mai mic decât cel din SUA și Europa de Vest, el este mult mai mare decât bugetul acordat de Casa Județeană de Asigurări de Sănătate pentru această patologie, reprezentând o povară greu de echilibrat pentru acest spital.

Sursa principală a ICD rămâne asociată asistenței medicale, asociată utilizării intensive și/sau inadecvate a antibioticelor, dar se constată extinderea infecției și în comunitate.

Creșterea numărului de cazuri comunitare se poate corela cu accesul facil la utilizarea antibioticelor și inhibitorilor de pompă de protoni, chiar și fără prescripție medicală.

Spitalizarea prelungită, erorile de antibioterapie și igiena inadecvată sunt asociate cu apariția ICD asociate asistenței medicale.

Promovarea regulilor de prevenire a transmiterii ICD și a strategiilor de "antibiotic stewardship" sunt cheia limitării ICD.

2.5. Studiul 4 - Studiu clinico-epidemiologic al infecției cu Clostridium difficile pe un lot de 706 pacienți internați în Spitalul Clinic de Boli Infecțioase “Sf. Cuv. Parascheva” Galați în perioada 1.01.2017÷31.12.2018

Studiul prospectiv, observațional, controlat activ, nerandomizat s-a efectuat pe un eșantion de 706 pacienți cu Infecție cu Clostridium Difficile (ICD) internați în Spitalul Clinic de Boli Infecțioase “Sf. Cuv. Parascheva” Galați, în perioada 1.01.2017÷31.12.2018 cu diagnosticul de Infecție cu Clostridium difficile, eșantion reprezentativ pentru o populație de pacienți cu ICD ce sunt tratați într-o unitate spitalicească specializată în boli infecțioase.

Informațiile au fost extrase din fișele de studiu ale fiecărui pacient, datele de pe perioada spitalizării fiind consemnate și în fișele de observație ale pacienților.

2.5.1. Obiective

- Caracterizarea clinico-biologică a loturilor studiate și analiza lor statistică comparativă, identificarea factorilor demografici, clinici și paraclinici ce influențează riscul de deces, de recidivă și durata tratamentului în ICD.

- Cuantificarea răspunsului la tratament și a prognosticului loturilor studiate.

- Elaborarea unui protocol de profilaxie, diagnostic și tratament ICD pentru Spitalul de Boli Infecțioase Galați, a unui suport de curs pentru asistenții medicali, de comunicări științifice pentru medici și a unei broșuri cu informații pentru pacient.

2.5.1.1. Etapele studiului

1. Perioada de screening

Pacienții internați în Spitalul Clinic de Boli Infecțioase „Sf. Cuv. Parascheva” Galați în perioada 1.01.2017÷31.12.2018 cu suspiciunea de diagnostic de Infecție cu Clostridium difficile au primit formularul de consimțământ informat al studiului, li s-a citit și explicat acest consimțământ de către medic și au fost lăsați 30 minute să se gândească dacă doresc să participe la studiu.

2. Perioada de tratament

Pacienții care au decis să participe la studiu și au semnat consimțământul au fost evaluați pentru criteriile de includere și excludere și s-a aplicat protocolul de investigații, de tratament și de monitorizare. Această perioadă include perioada spitalizării, pacientul fiind evaluat zilnic și zilele de tratament la domiciliu decise de medicul curant.

3. Perioada de monitorizare

Pacienții au fost evaluați telefonic sau în spitalizare de zi la o lună, 2 luni și 6 luni de la externare.

2.5.1.2. Criterii de includere în studiu

- adulți cu scaune moi, peste 3 în ultimele 24 ore, cu consistență 6-7 pe scara Bristol și toxine de Clostridium difficile A sau B sau A și B pozitive;

- pacienți care și-au exprimat în scris consimțământul informat pentru participare la studiu, personal în deplină cunoștință (model consimțământ informat).

2.5.1.3. Criterii de excludere din studiu

- pacienți inconștienți sau în incapacitatea de a semna un consimțământ informat;

- pacienți care au refuzat participarea la studiu;

- pacienți care, deși internați cu suspiciune de ICD, nu au îndeplinit criteriile clinice și paraclinice de diagnostic;

- femei gravide sau care alăptează.

- pacienții sub 18 ani.

- pacienții care au avut valori extreme (“outlieri”) la analizele de laborator uzuale (leucocite, hemoglobina, albumină serică, ionogramă, creatinină serică).

2.5.1.4. Subloturi de studiu

- 706 pacienți care au experimentat unul sau mai multe episoade de boală în Spitalul Clinic de Boli Infecțioase „Sf. Cuv. Parascheva” Galați în perioada 1.01.2017÷31.12.2018;

- Pacienții au fost împărțiți în 2 loturi: lotul A (N = 553) a fost constituit din pacienți cu infecție asociată asistenței medicale, în vreme ce lotul B (N = 153) a fost constituit din pacienții cu infecție cu sursă nedeterminată și comunitară. Este de menționat faptul că nu la toți pacienții au fost disponibile datele complete.

2.5.1.5. Endpointurile studiului

Endpointurile studiului au fost următoarele: numărul de decese, numărul de recidive / reinfecții, numărul de zile de terapie (indiferent de forma de administrare a terapiei, oral cu metronidazol sau oral cu vancomicină sau combinată, metronidazol iv și vancomicină oral asociată sau nu cu vancomicină clisme).

2.5.1.6. Analiza statistică a datelor demografice

Pentru analiza statistică a fost folosit programul R, versiunea 3.5.3 (c) R Core Team (2019), R: A language and environment for statistical computing, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, URL <https://www.R-project.org/> [310].

Analiza statistică a datelor demografice s-a efectuat pe lotul de pacienți cu ICD asociat asistenței medicale (lot A) comparativ cu cel cu ICD cu origine comunitară și nedeterminată (lot B). Prezentarea este sub formă Medie $\pm$ D.S (deviație standard) pentru variabilele continue și sub formă de frecvență absolută (frecvență relativă) pentru variabilele categoricale, testul folosit la analiza inferențială fiind specificat pentru fiecare variabilă, tabelul 2.8.

Tabelul 5. Analiză statistică comparativă a datelor demografice și a comorbidităților

Variabila		Lot A (IAAM)	Lot B (IC)	Valoare p
Vârsta – Medie $\pm$ D.S		68.02 $\pm$ 14.36	59.78 $\pm$ 17.15	< 0.0001 ¹
BMI – Medie $\pm$ D.S		25.35 $\pm$ 5.04	25.92 $\pm$ 5.59	0.2895 ¹
Sex	M – Nr (%)	261 (47.20)	53 (34.64)	0.0057 ²
	F – Nr (%)	292 (52.80)	100 (65.36)	-
Fumători	Da – Nr (%)	71 (13.79)	18 (12.41)	0.6690 ²
	Nu – Nr (%)	444 (86.21)	127 (87.59)	-
Mediu	Urban – Nr (%)	361 (65.28)	115 (75.16)	0.0210 ²
	Rural – Nr (%)	192 (34.72)	38 (24.84)	-
IMA	Da – Nr (%)	29 (5.24)	4 (2.61)	0.2003 ³
	Nu – Nr (%)	524 (94.76)	149 (97.39)	-
ICC	Da – Nr (%)	152 (27.49)	25 (16.34)	0.0049 ²
	Nu – Nr (%)	401 (72.51)	128 (83.66)	-
Boli Vasc. Periferice	Da – Nr (%)	41 (7.41)	3 (1.96)	0.0128 ³
	Nu – Nr (%)	512 (92.59)	150 (98.04)	-
AVC	Da – Nr (%)	76 (13.74)	7 (4.58)	0.0018 ²
	Nu – Nr (%)	477 (86.26)	146 (95.42)	-
Demență	Da – Nr (%)	51 (9.24)	6 (3.92)	0.0328 ²
	Nu – Nr (%)	501 (90.76)	147 (96.08)	-
BPOC	Da – Nr (%)	73 (13.20)	3 (1.96)	< 0.0001 ³
	Nu – Nr (%)	480 (86.80)	150 (98.04)	-
Boli Autoimune	Da – Nr (%)	8 (1.45)	1 (0.65)	0.6921 ³
	Nu – Nr (%)	543 (98.55)	152 (99.35)	-
Ulcere	Da – Nr (%)	31 (5.62)	6 (3.92)	0.4056 ²
	Nu – Nr (%)	121 (94.38)	147 (96.08)	-
Hepatite	Da – Nr (%)	86 (15.64)	21 (13.73)	0.5606 ²
	Nu – Nr (%)	464 (84.36)	132 (86.27)	-

DZ	Da – Nr (%)	104 (18.84)	19 (12.42)	0.0640 ²
	Nu – Nr (%)	448 (81.16)	134 (87.58)	-
IRC	Da – Nr (%)	87 (15.73)	7 (4.58)	0.0003 ²
	Nu – Nr (%)	466 (84.27)	146 (95.42)	-
Neoplazii	Da – Nr (%)	126 (22.78)	14 (9.15)	0.0002 ²
	Nu – Nr (%)	427 (77.22)	139 (90.85)	-
Hemiplegie	Da – Nr (%)	53 (9.60)	6 (3.92)	0.0248 ²
	Nu – Nr (%)	499 (90.40)	147 (96.08)	-
Charlson – Medie ± D.S		4.32 ± 2.56	2.71 ± 2.36	< 0.0001 ¹
Chirurgie Abdominală	Da – Nr (%)	60 (10.85)	2 (1.31)	< 0.0001 ³
	Nu – Nr (%)	493 (89.15)	151 (98.69)	-

¹ Welch test bidirecțional; ² χ^2 test bidirecțional; ³ Fisher exact test bidirecțional

2.5.1.7. Caracterele demografice și profilul de comorbidități a loturilor

Dintre cele 706 infecții cu Clostridium difficile tratați în Spitalul Clinic de Boli Infecțioase “Sf. Cuv. Parascheva” Galați în perioada 1.01.2017-31.12.2018, 553 au fost infecții asociate asistenței medicale. Procentul de IAAM în lotul studiat a fost 78.32%, mai mare decât cifra raportată la nivel național, de CNSCBT, în 2018 și anume 76%.

Vârsta medie în lotul cu infecții asociate asistenței medicale (68.02 ani) se suprapune pe mediana de vârstă raportată de CNSCBT, în 2018 și anume 68 ani. Pacienții cu infecții comunitare sunt mai tineri (vârstă medie = 59.78 ani). Tendința la nivel mondial este de scădere a numărului de cazuri asociate asistenței medicale și creșterea celor comunitare și astfel, în timp, am putea asista la o scădere a mediei de vârstă în această patologie, cunoscută acum, ca și patologie a vârstnicului imunodeprimat și cu multiple comorbidități.

În ambele loturi a predominat sexul feminin, semnificativ statistic mai multe femei în lotul cu infecții comunitare, ceea ce poate însemna că sexul feminin va rămâne mai frecvent în această patologie, poate și datorită speranței de viață mai mari la femei dar poate și datorită unor particularități de microfloră de colon ce se vor defini în viitor și care ar putea să le determine susceptibilitatea mai mare la ICD.

Mediul de proveniență în ambele loturi este predominant urban și acest lucru deschide perspective viitoare de cercetare în ceea ce privește anumite obiceiuri alimentare care modifică microbiomul și ar putea predispuce la ICD.

Ambele loturi au avut BMI (indicele de masă corporală) în zona de supraponderal, ceea ce ar putea ține de această predominanță la populația studiată, infecția cu Clostridium difficile fiind o boală acută ce nu determină modificări importante ale greutatei corporale.

Fumatul, de asemenea, nu a fost un factor care să diferențieze cele două loturi studiate, predominând nefumătorii în ambele loturi și aceasta fiind probabil tot o caracteristică generală a lotului studiat fără legătură cu susceptibilitatea la ICD.

Pacienții cu ICD au comorbidități multiple. În studiul nostru, insuficiența cardiacă și renală cronică, bronhopneumonia cronică obstructivă, bolile vasculare centrale sau periferice, demența și neoplaziile au pondere semnificativ statistic mai mare în lotul cu infecții asociate asistenței medicale, fiind boli cronice debilizante, cu potențial imunosupresor deci cu susceptibilitate crescută pentru ICD, care pentru monitorizare și tratament necesită multiple contacte cu sistemul medical și de aici asocierea lor mai frecventă cu ICD de tip IAAM. Cumulul de comorbidități, reunit de scorul CHARLSON, este mai mare în lotul cu IAAM. Această observație este concordantă cu datele din literatură, îngrijorător fiind faptul că ICD se extinde în comunitate și afectează pacienți mai tineri și cu mai puține comorbidități ceea ce deschide clar perspective de cercetare în zona de susceptibilitate la infecție. Studiul nostru relevă faptul că principalul factor de risc pentru IC este antibioterapia.

Analiza profilului de comorbidități a lotului studiat a relevat:

- procente semnificativ statistic, mai mari, de pacienți cu ICC care au experimentat episoade de ICD, în lotul cu IAAM iar studiile din literatură subliniază faptul că pacienții cu ICC care dezvoltă un episod de ICD au mortalitate mai mare decât cei doar cu ICC, ceea ce atrage atenția asupra măsurilor profilactice sporite în secțiile în care sunt tratați pacienți cu ICC [314].

- procente mici de pacienți care asociază boli vasculare periferice, infecției cu CD, dar semnificativ statistic mai frecvente în lotul cu IAAM, iar studiile din literatură subliniază faptul că pacienții ce au suferit o intervenție chirurgicală cardiovasculară și un episod de ICD au necesitat o lungime medie mai mare de ventilație mecanică, de îngrijiri ATI și de spitalizare față de cei fără ICD, ceea ce explică necesitatea măsurilor sporite de profilaxie a ICD în secțiile de chirurgie vasculară [315].

- asocierea accidentului vascular cerebral și a hemiplegiei, semnificativ statistic mai mari în lotul cu IAAM, iar studiile clinice sugerează că accidentul vascular cerebral este factor de risc important pentru recidiva ICD [316], ceea ce sugerează necesitatea unor măsuri sporite de prevenție a ICD în secțiile de neurologie.

- diabetul a avut ponderi asemănătoare în lotul cu IAAM și în cel cu IC, posibil și datorită diferențierii greoaie a cazurilor cu contact nosocomial, luându-se în considerare doar internările continue, dar pacienții diabetici se prezintă frecvent în ambulatoriile de specialitate și în serviciile de spitalizare de zi pentru tratamentul și monitorizarea bolii de bază, cât și a complicațiilor acesteia și a patologiilor asociate. Diabetul rămâne o cauză de imunosupresie și astfel un factor de risc pentru ICD.

- patologia psihiatrică nu se însoțește în mod obișnuit de ICD, însă s-a remarcat, totuși, demența asociată la pacienții din lotul propriu de studiu, cu procent semnificativ statistic mai mare în lotul cu IAAM. Greutatea cu care acești pacienți își efectuează igiena și contactul nosocomial repetat, pentru tratamentul bolii de fond și a celor asociate poate explica această asociere. Studiile clinice au remarcat o incidență mai mare a ICD la vârstnicii americani cu depresie decât la cei fără depresie, riscul de a dezvolta ICD fiind mai mare la pacienții ce folosesc medicație antidepressivă, la adulții vârstnici văduvi și la cei ce locuiesc singuri [317].

- un procent semnificativ statistic mai mare al asocierii BPOC-ICD în lotul cu IAAM comparativ cu lotul cu IC, iar studiile clinice subliniază mortalitatea intraspitalicească mai mare a pacienților cu BPOC și ICD față de cei fără BPOC, ceea ce atrage atenția asupra respectării măsurilor de igienă în secțiile de pneumologie, dar și asupra tratamentului cronic al acestei afecțiuni ce trebuie monitorizat cât mai atent pentru a preveni cât mai bine acutizările și decompensările și, astfel, evitarea contactului nosocomial și a antibioterapiei [318].

- un procent semnificativ statistic mai mare al asocierii insuficienței renale cronice cu ICD în lotul cu IAAM față de lotul cu IC iar studiile clinice subliniază creșterea riscului de deces la pacienții cu IRC care dezvoltă un episod de ICD față de cei doar cu IRC și de aici necesitatea măsurilor profilactice sporite în secțiile de dializă și nefrologie și rolul benefic al profilaxiei cu *Lactobacillus plantarum* 299v [320].

- prezența neoplaziilor în bolile asociate ICD a fost semnificativ statistic mai mare în lotul cu IAAM, iar studiile din literatură observă o mortalitate în timpul spitalizării semnificativ crescută la pacienții care au asociat ICD față de cei doar cu cancer [321], ceea ce atrage atenția asupra măsurilor de profilaxie ICD ce trebuie luate în secțiile ce îngrijesc pacienți neoplazici.

- scorul Charlson ce cumulează comorbiditățile și apreciază în baza acestora speranța de supraviețuire la 10 ani, a fost semnificativ statistic mai mare în lotul cu infecții asociate asistenței medicale comparativ cu lotul cu infecții comunitare iar un studiu publicat în 2017 consideră scorul Charlson predictor independent al evoluției ICD și observă existența unui scor Charlson mai mare la pacienții care au decedat în timpul spitalizării - 7.37 față de 4.4 la cei ce s-au externat vindecați [322].

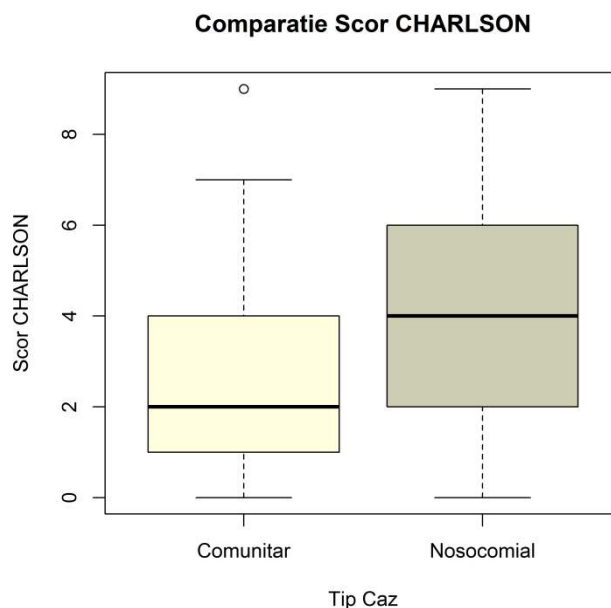


Fig. 13. Analiza comorbidităților în ansamblu-scorul Charlson în lotul cu infecții comunitare comparativ cu lotul cu infecții asociate asistenței medicale

2.5.1.8. Factorii de risc incriminați în declanșarea episodului de infecție cu *Clostridium difficile*

Studiile clinice din literatură subliniază că factorii de risc implicați în declanșarea episodului de ICD sunt: antibioterapia, vârsta peste 65 ani, contactul cu unitățile de îngrijire medicală, chimioterapia pentru cancer, chirurgia gastrointestinală, alimentarea pe sondă nasogastrică, endoscopia digestivă superioară sau inferioară, comorbiditățile pacientului (boli cronice sau invalidante însoțite de imunodepresie) [323], [324], [325], [135].

- Antibioterapia este cel mai important factor de risc modificabil pentru ICD.

Prezența antibioterapiei în ultimele 12 săptămâni înaintea debutului ICD a fost identificată la 71.42% dintre pacienții cu IAAM și la 45.75% dintre pacienții cu IC, spre deosebire de studiile din literatură care afirmă inițial că aproximativ 5-10% dintre pacienții cu ICD nu au fost expuși la antibiotice [313]. Clasele de antibiotic considerate cu risc înalt pentru ICD sunt: clindamicina, fluorochinolonele, cefalosporinele, aztreonamul și carbapenemele iar cele considerate cu risc moderat pentru ICD sunt: macrolidele, sulfonamidele/trimetoprim și penicilinele [326].

Se remarcă, în prezentul studiu, procente mai mari la clasele de antibiotice cu risc înalt pentru ICD la lotul cu IAAM (cefalosporine, fluorochinolone, carbapeneme, clindamicină) decât în cel cu IC. Cea mai mare diferență este la consumul de cefalosporine și anume 28.21% în lotul cu IAAM față de 16.34% în lotul cu IC. Se remarcă totuși folosirea tuturor acestor clase de antibiotic cu risc înalt și la cazurile cu sursă comunitară deci tratate în medicina primară sau ambulator ceea ce poate fi unul din factorii responsabili pentru extinderea infecției în comunitate și care obligă la revizuirea ghidurilor și practicilor de antibioterapie și în medicina primară.

- Chimioterapia pentru cancer este considerată un factor de risc pentru ICD, prezența ei în loturile noastre de studiu fiind observată la foarte puțini pacienți. În studiile clinice din literatură, ICD a fost considerată cea mai comună cauză bacteriană a diareei asociate asistenței medicale la pacienții ce primeau chimioterapie pentru cancer, în 2011, în SUA. Cea mai mare rată de ICD a fost descrisă la pacienții ce au primit transplant de celule stem hematopoietice (alogeneic - 27%, autolog - 9%) și chimioterapie pentru leucemie (12.4%) și cea mai mică pentru pacienții cu tumori solide (1.4%) [319].

- Chirurgia abdominală în ultimele 12 săptămâni are pondere mică în ambele loturi de studiu. Prezența în istoricul pacientului a chirurgiei abdominale recente este totuși semnificativ statistic mai mare în lotul cu IAAM. În studiile din literatură, incidența ICD, la pacienții supuși unei intervenții chirurgicale gastrointestinale, variază de la 0,28% la 6,8% [315], [316], [317], [318], [319], [320], [341], [344].

Dintre toate procedurile chirurgicale abdominale, colectomia, rezecția intestinului subțire și rezecția gastrică au fost asociate cu cel mai mare risc de ICD [317], [320]. Cel mai mare procent de ICD a fost observată după chirurgia cancerului colorectal [319]. S-a sugerat că obstrucția intestinală funcțională predispune la infecția cu CD prin modificarea florei bacteriene normale a intestinului [315], [319]. Pe de altă parte, breșa din microfloră și dezechilibrul imun create prin trauma operatorie, pot predispune la apariția ICD [344]. Pacienții chirurgicali cu ICD au o creștere a mortalității de 3,4 ori în comparație cu pacienții fără ICD [316], [317], [321]. Deasemenea, pacienții cu ICD au mai multe șanse să aibă complicații postoperatorii, necesită îngrijire ATI, reintervenție chirurgicală sau reinternare în termen de 30 de zile de la externarea inițială în proporții mai mari decât cei fără ICD [316].

- Endoscopia digestivă superioară sau colonoscopia în ultimele 12 săptămâni au ponderi mici în ambele loturi de studiu. În ceea ce privește, considerarea endoscopiei ca factor de risc pentru ICD, un studiu clinic pe 287 de perechi de pacienți caz-control, cu vârsta medie, 78 de ani, 65% femei, a observat că riscul absolut de a dezvolta ICD după endoscopie este foarte scăzut și anume 0.48% în primele 90 de zile de la endoscopie [294].

- Vârsta peste 65 ani a fost identificată ca factor de risc în lotul cu ICD asociată asistenței medicale. Pacienții cu IC au fost mai tineri și anume au avut media de vârstă 59.78 ani.

- Comorbiditățile au reprezentat un factor de risc important în lotul cu IAAM, în care scorul Charlson cu valori peste 4 are pondere mai mare decât în lotul cu IC, pacienții cu IAAM prezentând un cumul de comorbidități mai mare decât cei cu IC.

- Contactul cu unitățile medicale poate fi considerat un factor de risc important având în vedere că procentul de IAAM în lotul studiat a fost 78.32%, mai mare decât cifra raportată la nivel național, de CNSCBT, în 2018 și anume 76%.

- În loturile studiate nu au existat pacienți hrăniți prin sondă nasogastrică datorită faptului că acești pacienți adesea necesită îngrijiri de terapie intensivă și studiul s-a efectuat într-un spital de rank 5 care nu acordă astfel de îngrijiri. Pacienții care au necesitat acest tip de îngrijiri au fost transferați la Spitalul Clinic Județean de Urgență Galați și au ieșit din studiu din lipsa posibilității monitorizării adecvate, dar ei au fost cazuri foarte rare. O metaanaliză a opt studii clinice observaționale concluzionează în 2018 că există o asociere semnificativă statistic între inserția unui tub nazogastric și riscul rezultatelor slabe ale evoluției ICD (rata de risc combinată a rezultatelor clinice severe sau complicate ale ICD la pacienții cu inserție de tub nazogastric a fost de 1,81 (IC 95%: 1,17 până la 2,81)). Această constatare impune evitarea utilizărilor inutile de tub nazogastric și ar permite îmbunătățirea rezultatelor terapeutice a ICD [295].

*2.5.1.9. Factorii de risc pentru mortalitate prin infecție cu *Clostridium difficile**

Studiile din literatură identifică următorii factori de risc pentru mortalitate prin ICD: vârsta, comorbiditățile, hipoalbumemia, leucocitoza, insuficiența renală acută și infecția cu ribotip 027 [329]. În studiul propriu, folosind regresia logistică simplă univariată au fost identificați următorii factori de risc pentru deces: vârsta peste 80 ani, valoarea scorului Charlson, adică cumulul de comorbidități al pacientului, leucocitele peste 16000, albumina, creatinina, sodiul și potasiul seric, prezența ascitei și valoarea scorului ATLAS adică severitatea episodului de boală iar cu ajutorul regresiei logistice binare simple multivariate au fost identificați, următorii factori de risc pentru decesul prin ICD: albumina serică și valoarea scorului ATLAS adică severitatea episodului de boală.

2.5.1.10. Parametrii clinici

S-a observat prezența febrei și a durerilor abdominale în ponderi asemănătoare în cele două loturi, febra fiind un simptom rar întâlnit spre deosebire de durerile abdominale care sunt cvasiprezente, cel mai frecvent sub formă de durere colicativă pe cadrul colic sau difuză abdominală. Numărul mediu de scaune în ultimele 24 ore înaintea începerii terapiei și numărul mediu de zile de la debutul bolii până la începerea terapiei sunt mai mari în lotul cu infecții comunitare, ceea ce atrage atenția asupra neglijării simptomelor și prezența întârziată la spital pentru investigații și tratament.

Prezența ascitei a fost observată la un număr mic de pacienți din cele două loturi, preponderent în lotul cu IAAM și anume 12.12% dintre pacienții cu IAAM și 1.96% dintre pacienții cu IC. Menționăm că aceste cifre includ atât ascita apărută ca și complicație a comorbidităților, înaintea sau în timpul ICD cât și ascita apărută în context de megacolon ca și complicație a ICD.

Valoarea medie a frecvenței cardiace la pacienții cu IAAM a fost 89.93 bătăi pe minut și 87.73 bătăi pe minut la pacienții cu IC. Ambele valori sunt ușor crescute față de valorile normale, exprimând starea de deshidratare a acestor pacienți la începutul terapiei.

Valoarea medie a tensiunii arteriale a fost mai scăzută în lotul cu IAAM și anume 126.66 mmHg comparative cu cea din lotul cu IC unde a fost 130.62 mmHg, ambele situate sub valoarea normală a mediei de vârstă a loturilor.

2.5.1.11. Parametrii paraclinici

Se observă că toți parametrii paraclinici au ponderi mai mari, pe nivelele cu caracter de severitate înaltă, în lotul cu IAAM. Astfel, se poate afirma că pacienții cu infecții cu sursă comunitară au dezvoltat episoade de boală cu un grad mai mic de severitate decât cei cu IAAM.

- Se remarcă cele mai mari procente, în toate loturile, de leucocite serice totale sub 16000, concordant cu observația clinică a faptului că ICD este o infecție bacteriană care nu se însoțește de leucocitoze mari fie din cauza organismelor imunocompromise la care apare, fie datorită specificului infecției, astfel încât apariția unei leucocitoze importante la un pacient cu ICD este un criteriu cert de severitate a episodului de boală.

- Albumina serică are valori între 2.5 și 3.5 predominant în lotul cu IAAM și în lotul total și valori normale predominant în lotul cu IC. Pierderea de proteine prin scaunele nedigerate și consecutiv scăderea albuminei serice este considerat marker de severitate a episodului clinic de ICD sau de prezentare tardivă la medic sau asocierea unor comorbidități însoțite de hipoalbuminemie (în principal ciroza hepatică, sindrom nefrotic și neoplazii).

- Anemia însoțește episoadele de ICD în ambele loturi, valori ale hemoglobinei sub 12 fiind observate la 51.71% din pacienții cu IAAM și la 26.79% din pacienții cu IC.

- Diselectrolitemiile sunt prezente în ambele loturi, cu preponderența hipopotasemiei în lotul cu IAAM (30.5%).

- Valori ale creatininei serice peste 1.5 mg/dl, considerate factor de severitate a episodului de boală, au fost observate în 19.8% din pacienții cu IAAM și 13.28% din pacienții cu IC.

2.5.1.12. Scorul ATLAS

Scorul ATLAS este o combinație de parametri clinici și paraclinici, dovedit în studii clinice a avea cea mai mare relevanță în aprecierea severității episodului de boală.

Valoarea medie a scorului ATLAS a fost mai mare în lotul cu IAAM și tot în acest lot s-au observat procente mai mari de scoruri cu valoare de severitate mai înalte ceea ce ne permite să afirmăm că pacienții din lotul cu IAAM au dezvoltat episoade de boală cu severitate mai mare decât pacienții cu IC.

2.5.1.13. Parametrii de prognostic

Evoluția pacienților a fost apreciată cu ajutorul următorilor parametri: numărul de zile de la începerea tratamentului până la normalizarea scaunului (1-2 scaune/zi, consistență 1-4 pe scara Bristol, menținut 48 ore), numărul de zile de tratament antibiotic (în spital și la domiciliu), numărul de zile de spitalizare, numărul de recidive (episod nou de boală apărut în primele 8 săptămâni de la rezoluția clinică a episodului de ICD studiat), numărul de reinfecții (episod nou de boală apărut în săptămânile 9-24 de la rezoluția clinică a episodului de ICD studiat), numărul de decese apărute în primele 30 zile de la externare (considerat a reflecta impactul ICD pe rata de deces) și numărul de decese apărute în primele 6 luni de la externare (considerat a reflecta impactul comorbidităților și a ICD pe rata de deces). Numărul de zile de la începerea tratamentului până la normalizarea scaunului, numărul de zile de tratament antibiotic și numărul de zile de spitalizare au fost comparabile în cele două loturi de studiu, cu o mediană de 4 zile până la normalizarea scaunului, de 10 zile de tratament antibiotic și de 7-8 zile de spitalizare.

Numărul de zile de spitalizare mai mare decât media spitalului în care au fost tratați acești pacienți a fost observat la 69.55% din pacienții cu ICD, cu o pondere mai mare în lotul cu IAAM față de lotul cu IC.

Numărul de recidive și numărul de decese a fost mai mare în lotul cu IAAM. Atât comorbiditățile mai severe, cât și severitatea mai mare a episoadelor de ICD au condus la un prognostic mai sever al lotului cu IAAM.

În studiile clinice, până la 25% dintre pacienți se confruntă cu ICD recurente în primele 30 de zile de la finalizarea tratamentului [351]. Mai puțin frecvent, ICD recurentă poate apărea până la două luni după întreruperea tratamentului. Odată ce pacienții au prezentat o recidivă, aceștia prezintă un risc semnificativ crescut pentru recidive ulterioare. Factorii de risc pentru recurență includ vârsta >65 de ani, afecțiuni medicale subiacente severe, necesitatea tratamentului continuu cu antibiotice concomitente în timpul tratamentului pentru ICD și lipsa unui răspuns imun mediat de anticorpi la toxina B [189], [353], [354], [355], [356]. Simptomele recurenței se pot datora recidivei tulpinii infectante inițiale sau reinfecției cu o tulpină nouă [357], [358], [359]. ICD recurentă reprezintă adesea recidiva mai degrabă decât reinfecție, indiferent de intervalul dintre episoade. Printre 134 de izolate de scaun împerecheate de la 102 pacienți cu infecții recurente de *C. difficile*, izolatele obținute între 2 și 8 săptămâni au fost identice între ele, în 88% din cazuri; izolatele obținute între 8 săptămâni și 11 luni au fost identice între ele, în 65% din cazuri [360].

*2.5.1.14. Impactul factorilor demografico-clinici asupra ratei de deces post-infecție cu *Clostridium difficile**

Datorită faptului că au existat variabile neomogene între cele 2 loturi (au existat diferențe cu semnificație statistică între cele 2 loturi) s-au "atenuat" aceste diferențe, folosind un scor de propensitate, pentru analiza impactului asupra ratei de deces, a duratei tratamentului și a ratei de recidivă. Pentru calcularea scorului de propensitate au fost luate în considerare variabilele care la teste au relevat diferențe cu semnificație statistică, în afara scorului Charlson, pentru că acesta depinde de toate variabilele comparate și nu la toate testele de comparație diferențele au fost cu semnificație statistică. Cu ajutorul scorului de propensitate s-a reușit faptul că diferențele semnificative statistic existente înainte de atenuare sunt "transformate" în marea lor majoritate în diferențe fără semnificație statistică.

Rata de deces în primele 6 luni de la episodul de ICD a fost în lotul total de 18.13% (128 din 706 pacienți), la lotul A de 20.43% (113 din 553 de pacienți), iar în lotul B de 9.80% (15 din 153 de pacienți).

Impactul factorilor demografico-clinici asupra riscului de deces post-infecție cu *Clostridium*, a fost analizat cu o regresie logistică binomială simplă (un singur predictor inclus în model) care a sugerat că riscul de deces la pacienții cu infecție de tip nosocomial este de aproape 2.5 ori mai mare față de pacienții cu infecție comunitară, efectul fiind semnificativ statistic ($p < 0.01$), dar acest rezultat este influențat de neomogenitățile în ceea ce privește comorbiditățile între cele 2 categorii de pacienți, analiza atenuată cu ajutorul scorului de propensitate relevă faptul că tipul de caz nu pare a influența riscul de deces ($p > 0.05$), comorbiditățile părând a juca un rol mai important decât tipul de infecție.

Tabelul 6. Analiza influenței originii nosocomiale a cazurilor asupra riscului de deces, după atenuare cu ajutorul scorului de propensitate

<i>Variabila</i>	<i>Coeficient</i>	<i>Valoare p</i>	<i>OR [IC95%]</i>
Caz Comunitar (Atenuat)	REFERINTA	-	-
Nosocomial	0.34	0.2340	1.40 [0.80 la 2.46]

Rolul comorbidităților în riscul de deces a fost analizat prin regresie logistică binară univariată simplă cu variabilă independentă scorul Charlson și s-a observat că o creștere cu 1 unitate a scorului Charlson este asociată cu o creștere de 1.26 ori a riscului de deces la 30 de zile de la episodul de

ICD (efect cu semnificație statistică, $p < 0.01$), în vreme ce o creștere cu 1 unitate a scorului Charlson este asociată cu o creștere de 1.29 ori a riscului de deces la 6 luni de la episodul de ICD (efect, de asemenea, cu semnificație statistică, $p < 0.001$).

Tabelul 7. Analiza influenței scorului Charlson asupra riscului de deces
(OR = odds ratio analiză univariată)

Variabila	Valoare p	OR [IC95%]
Scor CHARLSON /deces 30 zile	< 0.0001	1.26 [1.15 la 1.40]
Scor CHARLSON /deces 6 luni	< 0.0001	1.29 [1.19 la 1.40]

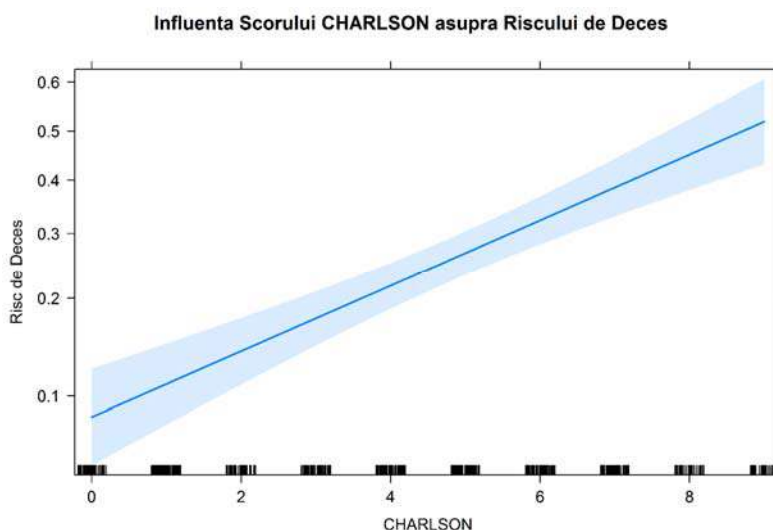


Fig. 14. Grafic diagnostic al algoritmului de calculare a scorului de propensitate, transformarea diferențelor semnificativ statistice

Această analiză relevă rolul important al comorbidităților în riscul de deces post ICD, ceea ce sugerează că infecția cu Clostridium difficile este doar un factor potențial agravant sau precipitant, cauza primară de deces fiind boala de bază. Apariția infecției cu Clostridium difficile poate fi considerată un factor predictiv de deces la acești pacienți cu multiple comorbidități.

Știind că la pacienții din acest studiu comorbiditățile joacă un rol major în riscul de deces, o altă analiză a luat în considerare scorul Charlson pentru fiecare variabilă independentă, modelul fiind cel al regresiei logistice binare univariate multiple (2 variabile independente în analiză) și a relevat faptul că următorii parametri influențează riscul de deces: numărul de leucocite serice, albuminemia, anemia, nivelele serice de Na, K și Cl, valoarea scorului Atlas și prezența ascitei la debutul tratamentului.

Tabelul 8. Influența parametrilor clinici și paraclinici asupra riscului de deces

Variabila	Coeficient	Valoare p	OR [IC95%]
Nr. zile de la debut până la începerea terapiei	0.007	0.4570	1.00 [0.98 la 1.02]
AV	0.006	0.2340	1.00 [0.99 la 1.01]
Numar de Leucocite (mii)	0.06	< 0.0001	1.06 [1.03 la 1.09]
Albumina	-1.66	< 0.0001	0.18 [0.12 la 0.28]
Hb	-0.20	< 0.0001	0.81 [0.74 la 0.89]
Na	-0.04	0.0130	0.95 [0.91 la 0.98]
K	-0.32	0.0318	0.72 [0.53 la 0.96]
Cl	0.01	0.9450	1.00 [0.96 la 1.03]
Creatinina	0.28	0.006	1.32 [1.08 la 1.63]

ATLAS		0.40	< 0.0001	1.49 [1.32 la 1.69]
Ascita	Da	REFERINȚĂ	-	-
	Nu	-1.44	< 0.0001	0.23 [0.13 la 0.39]
Chimioterapie	Da	REFERINȚĂ	-	-
	Nu	-0.91	0.0793	0.40 [0.14 la 1.12]
Toxina A	Negativ	REFERINȚĂ	-	-
	Pozitiv	0.01	0.9600	1.01 [0.61 la 1.69]
Toxina B	Negativ	REFERINȚĂ	-	-
	Pozitiv	0.29	0.1990	1.33 [0.86 la 2.11]
GDH	Negativ	REFERINȚĂ	-	-
	Pozitiv	-0.18	0.3320	0.83 [0.57 la 1.21]

O altă analiză în care s-a utilizat o regresie logistică binară univariată multiplă folosind, pe lângă scorul de comorbiditate Charlson (păstrat în model permanent), variabilele independente pentru care valoarea p a fost semnificativă statistic (e.g < 0.05), modelul final fiind construit în baza unui algoritm de selecție retrogradă ("backward selection") și s-a observat că albumina serică și prezența ascitei au influențat cu semnificație statistică pe rata de deces.

Tabelul 9. Influența albuminei și creatininei serice, a prezenței ascitei și a scorului Charlson asupra riscului de deces

Variabila	Coeficient	Valoare p	OR [IC95%]
Albumina	-1.50	< 0.0001	0.22 [0.14 la 0.33]
Creatinina	0.21	0.0658	1.24 [0.98 la 1.57]
Ascita Da	REFERINȚĂ	-	-
Nu	-0.92	0.0080	0.39 [0.19 la 0.78]
Scor Charlson	0.12	0.0136	1.12 [1.02 la 1.24]

2.5.1.15. Impactul factorilor demografico-clinici asupra numărului de zile de tratament a infecției cu Clostridium difficile

Analiza impactului parametrilor demografico-clinici asupra numărului de zile de tratament, s-a efectuat după eliminarea pacienților decedați, pe un număr de 538 de pacienți și a fost folosită atenuarea calculată anterior la analiza pentru riscul de deces, folosind o regresie liniară.

Durata medie a terapiei la supraviețuitori a fost de 10.61 zile (10.70 zile pentru pacienții cu IAAM și 10.34 zile pentru pacienții cu IC). La analiza neatenuată, cât și la cea atenuată, tipul de infecție nu influențează durata terapiei ($p > 0.05$).

Tabelul 10. Analiza atenuată a influenței originii cazului asupra duratei tratamentului

Parametru Independent	Statistica T	Valoare p	Coeficient [IC95%]
Caz Comunitar (Atenuat)	REFERINȚĂ	-	-
Nosocomial	0.73	0.4620	0.25 [-0.42 la 0.94]

Scorul Charlson, nu pare a influența durata terapiei ($p > 0.05$).

Tabelul 11. Analiza influenței scorului Charlson asupra duratei tratamentului

Parametru Independent	Statistica T	Valoare p	Coeficient [IC95%]
Scor Charlson	0.49	0.6220	0.03 [-0.10 la 0.17]

Analiza cu un model de regresie liniară univariată simplă, scorul Charlson nefiind inclus în model, deoarece nu a influențat durata tratamentului a observat că o valoare mai mică a Na, un scor ATLAS mai mare și o valoare mai mare a creatininei sunt asociate cu o durată mai mare a terapiei ($p < 0.05$).

Valorile luate în considerare pentru sodiul seric și creatinina sunt cele de la internare și reflectă gradul de deshidratare al pacientului la începutul terapiei antibiotice.

Analiza statistică certifică observația clinică că un pacient ce se prezintă pentru investigații și tratament de la primele semne de boală, fără deshidratare semnificativă sau cei cu episoade ușoare de boală necesită terapii mai scurte. Semnele clinice ale enteritei acute sunt uneori ignorate și la pacienții cu comorbidități multiple pot determina dezechilibre hidroelectrolitice importante, iar prezența lor la internare, ca și cazul episoadelor de boală severe sau fulminante, anunță necesitatea unei terapii de lungă durată.

Tabelul 12. Analiza prin regresie lineară simplă a influenței parametrilor clinici și paraclinici asupra duratei tratamentului

Parametru Independent	Statistica T	Valoare p	Coefficient [IC95%]
Vechime Boală	0.33	0.7390	0.01 [-0.03 la 0.04]
AV	1.08	0.2800	0.01 [-0.01 la 0.03]
Leucocite (mii)	1.61	0.1080	0.05 [-0.01 la 0.11]
Albumină	-0.49	0.6200	-0.14 [-0.74 la 0.44]
Hb	-1.58	0.1130	-0.14 [-0.33 la 0.03]
Na	-2.38	0.0177	-0.09 [-0.16 la -0.01]
K	-0.40	0.6850	-0.12 [-0.73 la 0.48]
Cl	-1.82	0.0691	-0.07 [-0.15 la 0.01]
Creatinină	2.14	0.0325	0.47 [0.04 la 0.90]
ATLAS	2.01	0.0449	0.23 [0.01 la 0.47]
Ascită Prezentă	REFERINȚĂ	-	-
Absentă	0.12	0.9040	0.08 [-1.35 la 1.53]
Toxina A Negativ	REFERINȚĂ	-	-
Pozitiv	-1.72	0.0852	-0.81 [-1.73 la 0.11]
Toxina B Negativ	REFERINȚĂ	-	-
Pozitiv	-0.38	0.7040	-0.14 [-0.91 la 0.62]
GDH Negativ	REFERINȚĂ	-	-
Pozitiv	1.05	0.2910	0.38 [-0.32 la 1.08]

Analiza prin regresie lineară simplă a fost urmată de o regresie lineară multiplă, algoritmul fiind de selecție retrogradă, modelul final conținând un singur parametru independent și anume valoarea Na seric considerată impactantă pe durata terapiei.

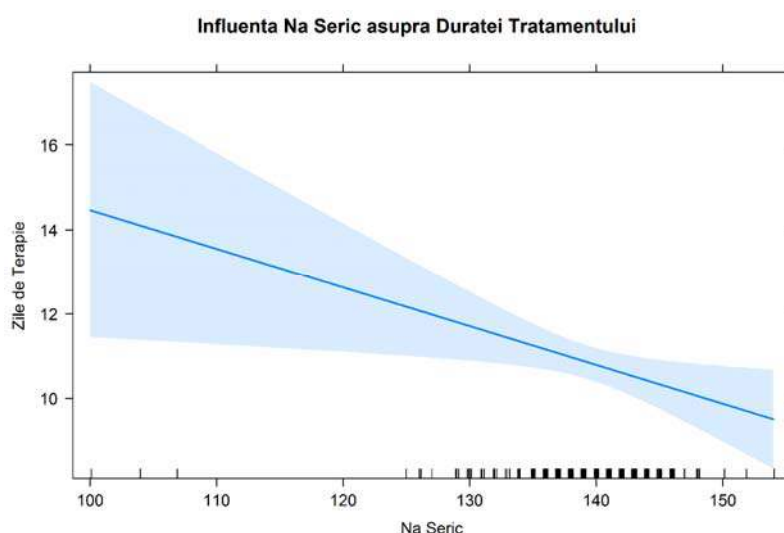


Fig. 15. Influența valorii serice a sodiului asupra duratei tratamentului

Tabelul 13. Analiza prin regresie lineară multiplă a influenței parametrilor clinici și paraclinici asupra duratei tratamentului

Parametru Independent	Statistica T	Valoare p	Coeficient [IC95%]
Na	-2.38	0.0177	-0.09 [-0.16 la -0.01]

2.5.1.16. Impactul factorilor demografico-clinici asupra numărului de zile de spitalizare pentru un episod de infecție cu Clostridium difficile

Analiza a folosit o regresie lineară univariată simplă (doar pentru variabilele independente cu valoare p semnificativă statistic) și a observat că la pacienții cu vârsta înaintată, scor Charlson mare și scor ATLAS mare, durata de spitalizare este crescută, de asemenea durata de spitalizare este crescută și la pacienții cu hiponatremie și hipoalbuminemie.

Tabelul 14. Analiza influenței parametrilor demografico-clinici asupra numărului de zile de spitalizare

Parametru Independent	Statistica T	Valoare p	Coeficient [IC95%]
Vârsta	5.06	< 0.0001	0.04 [0.02 la 0.06]
Scor CHARLSON	3.21	0.0010	0.16 [0.06 la 0.26]
Albumina	-5.61	< 0.0001	-1.31 [-1.77 la -0.85]
Na	-3.43	0.0010	-0.09 [-0.15 la -0.04]
Scor ATLAS	5.44	< 0.0001	0.45 [0.29 la 0.61]

2.5.1.17. Impactul factorilor demografico-clinici asupra riscului de recidivă a infecției cu Clostridium difficile

Analiza influenței parametrilor demografico-clinici asupra riscului de recidivă s-a efectuat identic cu analiza pentru riscul de deces, variabila dependentă fiind reprezentată în acest caz de existența/absența recidivei. Analiza neatenuată relevă că pacienții cu IAAM au o probabilitate de 1.7 ori mai mare de apariție a recidivei infecției ($p < 0.05$). La analiza atenuată, tipul de infecție nu pare a fi factor de risc pentru recidivă ($p > 0.05$).

Tabelul 15. Analiza atenuată a influenței originii cazului asupra riscului de recidivă

Variabila	Coeficient	Valoare p	OR [IC95%]
Caz Comunitar (Atenuat)	REFERINȚĂ	-	-
Nosocomial	0.29	0.3000	1.34 [0.76 la 2.36]

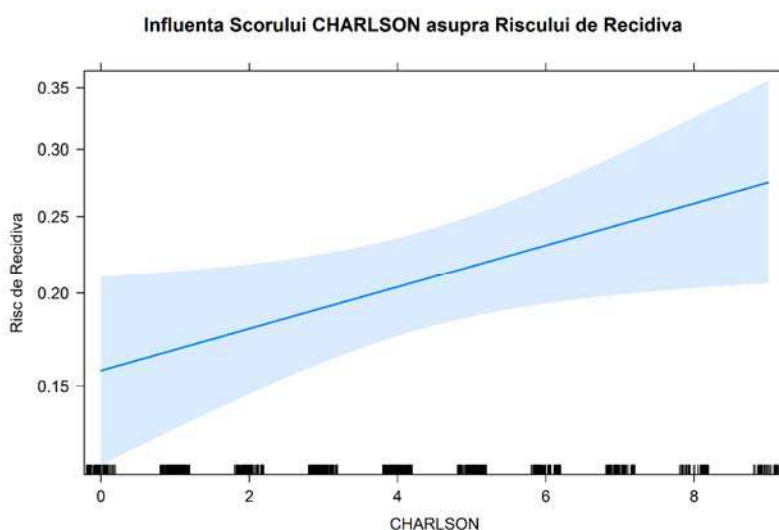


Fig. 16. Influența scorului Charlson asupra riscului de recidivă

Regresia logistică binară univariată simplă cu variabilă independentă, scorul Charlson a observat că o creștere cu o unitate a scorului Charlson, este asociată cu o creștere cu 8% a riscului de recidivă, efect cu semnificație statistică ($p < 0.05$).

Tabelul 16. Analiza influenței scorului Charlson asupra riscului de recidivă

<i>Variabila</i>	<i>Coeficient</i>	<i>Valoare p</i>	<i>OR [IC95%]</i>
Scor Charlson	0.07	0.0284	1.08 [1.01 la 1.16]

2.5.1.18. Analiza tipurilor de tratament

S-a remarcat faptul că în lotul cu infecții comunitare, în care au fost pacienți mai tineri, cu mai puține comorbidități și au experimentat episoade de boală mai puțin severe decât pacienții din lotul cu IAAM, s-au efectuat mai multe tratamente cu metronidazol tablete și a fost un procent mai mic de pacienți care au necesitat administrare de albumină umană.

Numărul de zile de tratament este comparabil în cele două loturi, cu cea mai mică medie în cazul tratamentelor cu metronidazol tablete, aplicate pacienților cu puține comorbidități și cu forme clinice cu severitate mică și cu cea mai mare medie în cazul terapiilor combinate cu vancomicina orală asociată sau nu cu vancomicină clisme, asociată cu metronidazol intravenos, aplicate pacienților cu forme clinice cu severitate mare.

Tabelul 17. Analiza tipurilor de terapie efectuate în cele două loturi de studiu

<i>Variabila</i>	<i>Lot A (IAAM)</i>	<i>Lot B (IC)</i>
Nr. total pacienți/lot	553	153
Nr. pacienți tratați cu metronidazol/%	54(9.76)	33(21.56)
Nr. pacienți tratați cu vancomicină/%	402(72.69)	93(60.78)
Nr. pacienți tratați cu metronidazol și vancomicină /%	97(17.54)	27(17.64)
Nr. pacienți tratați cu albumină umană/%	24(4.33)	4(2.61)
Nr. mediu de zile de tratament cu metronidazol ± deviația standard	8.55±2.19	8.93±2.43
Nr. mediu de zile de tratament cu vancomicină ± deviația standard	10.08±3.20	10.24±3.11
Nr. mediu de zile de tratament cu metronidazol și vancomicină ± deviația standard	11.42±3.74	12±3.73

2.5.1.19. Analiza costurilor tratamentului infecției cu Clostridium difficile

Analiza datelor din deconturile de cheltuieli din 166 foi de observație a pacienților externati în perioada 1.07.2018-31.12.2018 cu diagnosticul de gastroenterită acută cu Clostridium difficile din Spitalul Clinic de Boli Infecțioase “Sf. Cuv. Parascheva” Galați a relevat faptul că cea mai mare pondere în decontul total o au cheltuielile cu cazarea și personalul de îngrijire și administrativ.

Costul medicamentelor, materialelor sanitare, a hranei și a analizelor reprezintă 16.22% din total cheltuieli, astfel: medicamente 7.61%, analize 6.02%, hrană 1.90% și materiale sanitare 0.68%.

Decontul mediu al unui bolnav cu ICD tratat în clinică este de 4434.45 lei, o sumă ce reprezintă 387.62% din suma alocată de Casa Județeană de Asigurări pentru un caz de ICD, adică 1144lei. Astfel, aceste cazuri, dincolo de complexitatea patologiei asociate și a posibilității evolutive spre forme clinice severe sau fulminante, rămân o povară greu de echilibrat pentru managementul unei secții de Boli Infecțioase dintr-un spital clinic universitar de rank 5.

Tabelul 18. Analiza tipurilor de terapie efectuate în cele două loturi de studiu

Variabilă	Nr. zile spitalizare	Decont total	Cost analize	Cost hrană	Cost materiale sanitare	Cost medicamente
Medie aritmetică	7.26	4434.45	266.97	84.37	30.24	337.89
Deviație standard	3.76	2665.54	174.88	59.31	31.52	617.87
Valoare minimă	0	166.58	0	0	0	19.13
Valoare maximă	27	19085.19	1365.93	500	234.09	6083.13
Mediană	7	3909.63	234.32	77.5	18.93	189.79

2.5.2. Concluzii

- Studiul epidemioclinic efectuat în Spitalul Clinic de Boli Infecțioase Galați s-a adresat unei patologii care a reprezentat 7.82% din totalul internărilor în perioada 1.01.2017-31.12.2018 (828 externări cu ICD din 10578 total externări), o patologie nouă pentru clinică, primele cazuri diagnosticate și tratate aici fiind în trimestrul 3 al anului 2013, o patologie predominant asociată asistenței medicale și anume 78.32% din cazuri, potențial prevenibilă prin reevaluarea protocoalelor de igienă și antibioterapie.

Acest studiu s-a efectuat într-unul din cele cinci județe cu cel mai mare număr de cazuri, raportat la 100 de externări, din România, în 2018, județul cu cel mai mare număr de cazuri din regiunea de sud-est a României.

Studiul prospectiv, observațional, controlat activ, a analizat un lot de 706 pacienți tratați în acest spital în perioada 1.01.2017-31.12.2018, lot cu semnificație statistică pentru această patologie.

Studiul și-a propus să identifice diferențele dintre cele două subloturi ale acestui lot și anume între pacienții cu sursă unitățile de asistență medicală și cei cu sursă comunitară și să aprecieze factorii de risc pentru deces, pentru recidivă și pentru o durată mai lungă de tratament.

Studiul relevă diferențe semnificativ statistice între lotul cu IAAM și cel cu IC în ceea ce privește factorii de risc (vârsta, consum de antibiotice și IPP, chirurgie abdominală recentă și comorbidități), parametrii paraclinici (Hb, K), scor ATLAS de severitate a episodului de boală și parametrii de prognostic (număr de recidive și rata decesului în primele 30 zile de la externare și în primele 6 luni de la externare).

Vârsta medie în lotul cu IAAM a fost 68.02 ani și în lotul cu IC 59.78 ani; peste valoarea considerată cu risc și anume 65 ani în lotul cu IAAM.

În ambele loturi au predominat femeile și mediul de proveniență urban, semnificativ statistic mai important în lotul cu infecții cu origine comunitară.

Comorbiditățile pacienților care au avut pondere semnificativ statistic mai mare în lotul cu IAAM sunt: insuficiența cardiacă, bolile vasculare periferice, accidentul vascular cerebral în antecedente, hemiplegia, demența, bronhopneumonia cronică obstructivă, insuficiența renală cronică, neoplaziile și valoarea medie a scorului Charlson.

Prezența antibioterapiei în ultimele 12 săptămâni înaintea debutului ICD a fost identificată la 71.42% dintre pacienții cu IAAM și la 45.75% dintre pacienții cu IC, semnificativ mai frecventă în lotul cu IAAM.

Consumul de IPP în ultimele 12 săptămâni a fost observat la 32.36% dintre pacienții lotului cu IAAM, semnificativ mai mulți decât cei 11.76% dintre pacienții lotului cu IC.

Chirurgia abdominală efectuată în ultimele 12 săptămâni a fost identificată în anamneza a 10.85% dintre pacienții lotului cu IAAM, semnificativ mai mulți decât cei 1.31% dintre pacienții lotului cu IC.

Parametrii clinici nu au diferențiat semnificativ cele două loturi, dar analiza lor definește tabloul clinic al bolii și anume: durerile abdominale sunt prezente la majoritatea cazurilor (99.34% la IAAM și 99.06% la IC), febra este rar întâlnită (13.74% în lotul cu IAAM și 17.64% în lotul cu IC), simptomele sunt în general ignorate câteva zile și anume numărul mediu de zile de la debutul ICD până la începerea tratamentului este 5.95 zile în lotul cu IAAM și 8.52 zile în lotul cu IC, numărul mediu de scaune neformate pe zi au fost 4.74 scaune în lotul cu IAAM și 5.35 scaune în lotul cu IC, pacienții au prezentat ușoară hipotensiune și tahicardie la internare (valori medii lot IAAM - tensiune arterială sistolică 126.66 mmHg și puls 89.93/minut, iar în lotul IC - tensiune arterială sistolică 130.62 mmHg și puls 87.73/minut).

Parametrii paraclinici, analizați pe nivele de severitate, au avut următoarele ponderi:

- nivelul leucocitelor peste 15000/mm³ în lotul cu IAAM a fost observat la 19.52% dintre pacienți, iar în lotul cu IC a fost observat la 13.72% dintre pacienți.

- albuminemia sub 2.5 g/dl, a fost observată în 13.58% dintre pacienții lotului cu IAAM și la 8.86% dintre pacienții lotului cu IC.

- hemoglobina sub 12 g/dl a fost observată la 51.71% dintre pacienții lotului cu IAAM și la 26.79% dintre pacienții lotului cu IC.

- ionograma serică: Na seric sub 135mmoli/l a fost observat la 14.64% dintre pacienții lotului cu IAAM și la 14.43% dintre pacienții lotului cu IC, K seric sub 3.5 mmoli/l a fost observat la 30.50% dintre pacienții lotului cu IAAM și la 20.19% dintre pacienții lotului cu IC, Cl seric sub 98 mmoli/l a fost observat la 12.12% dintre pacienții lotului cu IAAM și la 9.70% dintre pacienții lotului cu IC.

- creatinina serică peste 1.5 mg/dl a fost observată la 19.80% dintre pacienții lotului cu IAAM și la 13.28% dintre pacienții lotului cu IC.

Se observă că toți parametrii paraclinici au ponderi mai mari a nivelelor de severitate înaltă în lotul cu IAAM ceea ce sugerează că pacienții cu infecții cu sursă comunitară au dezvoltat episoade de boală cu un grad mai mic de severitate decât cei cu IAAM.

Riscul de deces post ICD a fost influențat de scorul Charlson, nivelul leucocitelor, albuminei, hemoglobinei, sodiului și potasiului în sângele pacientului, la internare, scorul Atlas și prezența ascitei.

Riscul de recidivă a fost influențat de nivelul creatininei serice la internare.

Durata de tratament a fost influențată semnificativ de nivelele sodiului seric la internare și de scorul Atlas.

Astfel, se consideră necesară calcularea scorului Charlson și ATLAS la internarea pacientului cu ICD și, în colaborare cu rezultatele hemoglobinei, ionogramei și a creatininei, să se aprecieze schema de tratament optimă pentru cel mai bun prognostic.

Măsurile de profilaxie a ICD trebuie optimizate în așa fel încât să se mențină trendul scăzător al numărului de cazuri și personalizate pentru secțiile aflate în top ca sursă pentru ICD.

Măsurile de profilaxie ICD trebuie făcute cunoscute în comunitate (broșuri pentru pacienți, articole de presă), ghidurile personalizate de profilaxie și tratament a ICD trebuie permanent reactualizate și făcute cunoscute personalului medical prin activitățile de pregătire medicală continuă (simpozioane, lucrări științifice, cursuri OAMMR).

Capitolul 3

ORIGINALITATEA ȘI CONTRIBUȚIILE INOVATIVE ALE TEZEI

Lucrarea actuală conține primul studiu al tulpinilor circulante de Clostridium difficile în zona Galați, demonstrând existența unei tulpini cu agresivitate crescută și răspândire rapidă. Cultura în anaerobioză a permis studiul în microscopie electronică a bacililor de Clostridium difficile, identificând detalii structurale microbiene pentru prima dată la nivel național, utile practicii pedagogice și înțelegerii etiopatogeniei bolii. Efectuarea în paralel a unei tehnici de referință - cultura în anaerobioză cu imunocromatografia și PCR-ul a permis analiza comparativă a eficienței acestor teste în diagnosticul tulpinilor circulante în arealul studiat și concluzia că se poate folosi imunocromatografia de primă intenție, iar în cazurile de rezultate slab pozitive cu corelație clinică trebuie dublate de PCR.

Testarea stabilității chimice a vancomicinei și a metronidazolului în suc gastrointestinal artificial cu ajutorul spectrelor UV-Vis demonstrează posibilitatea administrării eficiente a acestora pe cale orală, fiindcă în practica curentă se folosește vancomicină pulbere pentru administrare intravenoasă în administrare orală.

Studiul de față este primul care a analizat incidența infecției cu Clostridium difficile în regiunea de sud-est a României, 116.57 cazuri la 100000 de locuitori, comparativ cu incidența ICD în SUA în epidemia din 2010-2011, de 147.2 cazuri la 100000 de locuitori și 130.28 cazuri la 100000 de locuitori în 2017. Maximul regiunii a fost observat în județul Galați, de 175 cazuri la 100000 de locuitori și minimul de 23 cazuri la 100000 de locuitori în județul Buzău. De asemenea, prezentul studiu este primul care cuantifică ponderea infecțiilor comunitare la nivel regional, comparativ cu nivelul național, cu următoarele rezultate: procentul infecțiilor comunitare din total ICD, în România, în 2018, a fost 19%; în regiunea de sud-est, în anii 2017-2018, a fost de 31.52%, cu o maximă în județul Buzău de 69.51% și o minimă în județul Vrancea de 15.05%; în județul Galați, în anii 2017-2018, a fost de 30.48%.

Studiul epidemioclinic a fost efectuat în județul Galați, ce se afla, în 2018, în top 5 județe cu cel mai mare număr de cazuri de ICD la 100 de externări la nivel național.

Studiul epidemioclinic efectuat în Spitalul Clinic de Boli Infecțioase Galați s-a adresat unei patologii care a reprezentat 7.82% din totalul internărilor în perioada 1.01.2017-31.12.2018 (828 externări cu ICD din 10578 total externări), o patologie nouă pentru clinică, primele cazuri diagnosticate și tratate aici fiind în trimestrul 3 al anului 2013, o patologie predominant asociată asistenței medicale și anume 78.32% din cazuri, potențial prevenibilă prin reevaluarea protocoalelor de igienă și antibioterapie.

Studiul a analizat comparativ un lot cu infecții asociate asistenței medicale cu un lot cu infecții comunitare și a identificat particularitățile demografice, clinice și paraclinice ale celor două loturi și a identificat parametrii cu semnificație statistică pe durata tratamentului, durata de spitalizare, riscul de deces și riscul de recidivă.

Coroborarea parametrilor cu impact pe prognosticul pacienților cu ICD impune necesitatea calculării scorului Charlson și ATLAS la internarea pacientului cu ICD, analiza valorilor hemoglobinei, ionogramei și a creatininei pentru a alcătui schema de tratament optimă pentru cel mai bun prognostic.

Lucrarea conține prezentări de cazuri ce asociază patologii speciale sau au avut severitate înaltă, sau au necesitat terapii speciale, cât și o analiză a unui mic lot de cazuri pediatrice, extrem de utile în practica clinică și pedagogică.

Anexele tezei conțin un protocol intern de diagnostic și tratament pentru Spitalul Clinic de Boli Infecțioase "Sf. Cuv. Parascheva" Galați și un ghid pentru pacienții cu ICD.

Promovarea regulilor de prevenire a transmiterii ICD și a strategiilor de „antibiotic stewardship”, cât și personalizarea ghidurilor de prevenție și tratament fiecărei specialități medicale pot fi cheia limitării ICD.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

- 1 Cohen S, Gerding D, Johnson S, Kelly C, Loo V, McDonald C, Pepin J, Wilcox M. Clinical Practice Guidelines for *Clostridium difficile* Infection in Adults: 2010 Update by the Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) and the Infectious Diseases Society of America (IDSA), *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 2010; 31(5):431-455.
- 2 He M, Sebaihia M, Lawley TD, Stabler RA, et al. Evolutionary dynamics of *Clostridium difficile* over short and long time scales, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2010; 107(16): 7527-7532.
- 3 Hall IC, O'Toole E. Intestinal flora in new-born infants with a description of a new pathogenic anaerobe: *Bacillus difficilis*, *The American Journal of Diseases of Children*. 1935; 49:390-402.
- 4 Bartlett JG, Chang TW, Gurwith M, Gorbach SL, Onderdonk AB. Antibiotic-associated pseudomembranous colitis due to toxin-producing clostridia, *The New England Journal of Medicine*. 1978; 298(10):531-534.
- 5 Gumerlock PH, Tang YJ, Weiss JB, Silva J. Specific detection of toxigenic strains of *Clostridium difficile* in stool specimens, *J. of Clinical Microbiology*. 1993; 31:507-511.
- 6 McDonald LC, Killgore GE, Thompson A, Owens RC, Kazakova SV, Sambol SP et al. An epidemic, toxin gene-variant strain of *Clostridium difficile*, *The New England Journal of Medicine*. 2005; 353:2433-2441.
- 7 McDonald LC, Owings M, Jernigan DB. *Clostridium difficile* infection in patients discharged from US short-stay hospitals, 1996-2003, *Emerging Infectious Diseases Journal*. 2006; 12:409-415.
- 8 Redelings MD, Sorvillo F, Mascola L. Increase in *Clostridium difficile*-related mortality rates, United States, 1999-2004, *Emerging Infectious Diseases Journal*. 2007; 13:1417-1419.
- 9 Burckhardt F, Friedrich A, Beier D, Eckmanns T. *Clostridium difficile* surveillance trends, Saxony, Germany, *Emerging Infectious Diseases J*. 2008;14:691-692.
- 10 Obuch-Woszczyński P., Dubiel G., Harmanus C., Kuijper E., Duda U., Wultańska D., van Belkum A., Pituch H. Emergence of *Clostridium difficile* infection in tuberculosis patients due to a highly rifampicin-resistant PCR ribotype 046 clone in Poland, *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis*. 2013; 32(8): 1027-1030.
- 11 Loo VG, Poirier L, Miller MA, Oughton M, Libman MD, Michaud S et al. A predominantly clonal multi-institutional outbreak of *Clostridium difficile*-associated diarrhea with high morbidity and mortality, *The New England J. of Medicine*. 2005; 353:2442-2449.
- 12 Warny M, Pepin J, Fang A, Killgore G, Thompson A, Brazier J et al. Toxin production by an emerging strain of *Clostridium difficile* associated with outbreaks of severe disease in North America and Europe, *The Lancet*. 2005;366:1079-1084.
- 13 Kuehne SA, Collery MM, Kelly ML, Cartman ST, Cockayne A, Minton NP. Importance of toxin A, toxin B, and CDT in virulence of an epidemic *Clostridium difficile* strain, *The Journal of Infectious Diseases*. 2014; 209:83-86.
- 14 Rafila A, Indra A, Popescu GA, et al. Occurrence of *Clostridium difficile* infections due to PCR ribotype 027 in Bucharest, Romania, 2011 to 2012, *The Journal of Infection in Developing Countries*. 2014; 8(6):694-698.
- 15 Popescu GA, Szekely E, Codiță I, Tălăpan D, Șerban R, Ruja G. Ghidul de diagnostic, tratament și prevenire a infecțiilor determinate de *Clostridium difficile*, ediția a-2a, București; 2016. 36 p.
- 44 Alam MJ, Anu A, Walk ST, Garey KW. Investigation of potentially pathogenic *Clostridium difficile* contamination in household environs. *Anaerobe*, 2014;27:31-33.
- 45 Weese JS, Finley R, Reid-Smith RR, Janecko N, Rousseau J. Evaluation of *Clostridium difficile* in dogs and the household environment, *Epidemiol Infect*. 2010;138(8):1100-1104.
- 79 Analiza evoluției infecției cu *Clostridium difficile* în spitalele din România, 2018.
<http://cnscbt.ro/index.php/analiza-date-supraveghere/infectii-nosocomiale-1/1225-analiza-evolutiei-infectiei-cu-clostridium-difficile-in-spitalele-din-romania-2018/file>
- 86 Kyne L, Merry C, O'Connell B, Keane C, O'Neill D. Community-acquired *Clostridium difficile* infection, *J Infect.*, 1998;36:287-288.
- 88 Kuijper EJ, Coignard B, Tull P. Emergence of *Clostridium difficile*-associated disease in North America and Europe, *Clin Microbiol Inf.*, 2006;12(6):2-18.
- 89 McDonald LC, Coignard B, Dubberke E, Song X, Horan T, Kutty PK. Recommendations for surveillance of *Clostridium difficile*-associated disease, *Infect Cont Hosp Epidemiol*, 2007;28(2):140-145.
- 105 Halimi D, Bourguignon MP, Sauvonnnet V, Perry JD. ChromID™ *C. difficile*, the first chromogenic medium for detection and direct identification of *Clostridium difficile*. Comparison with three commercially available selective media. 20th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID). 2010.
- 130 Johnson S, Louie TJ, Gerding DN, et al; Polymer Alternative for ICD Treatment (PACT) Investigators. Vancomycin, metronidazole, or tolevamer for *Clostridium difficile* infection: results from two multinational, randomized, controlled trials. *Clin Infect Dis* 2014; 59:345-54.

- 131 Dubberke ER, Han Z, Bobo L, et al. Impact of clinical symptoms on interpretation of diagnostic assays for *Clostridium difficile* infections. *J Clin Microbiol* 2011;49:2887-93.
- 132 Magill SS, Edwards JR, et al; Emerging Infections Program Healthcare-Associated Infections and Antimicrobial Use Prevalence Survey Team. Multistate point-prevalence survey of health care-associated infections. *N Engl J Med* 2014; 370:1198–208.
- 135 Bliss DZ, Johnson S, Savik K, Clabots CR, Willard K, Gerding DN. Acquisition of *Clostridium difficile* and *Clostridium difficile*-associated diarrhea in hospitalized patients receiving tube feeding. *Ann Intern Med* 1998; 129:1012-9.
- 152 Lessa FC, Mu Y, Bamberg WM, et al. Burden of *Clostridium difficile* infection in the United States. *N. Engl. J. Med.* 2015; 372:825–34.
- 183 Sitzlar B, Deshpande A, Fertelli D, Kundrapu S, Sethi AK, Donskey CJ. An environmental disinfection odyssey: evaluation of sequential interventions to improve disinfection of *Clostridium difficile* isolation rooms. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2013; 34:459–65.
- 184 Boyce JM, Havill NL, Otter JA, et al. Impact of hydrogen peroxide vapor room decontamination on *Clostridium difficile* environmental contamination and transmission in a healthcare setting. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008;29:723–9.
- 185 Barbut F, Menuet D, Verachten M, Girou E. Comparison of the efficacy of a hydrogen peroxide dry-mist disinfection system and sodium hypochlorite solution for eradication of *Clostridium difficile* spores. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2009; 30:507–14.
- 189 Sethi AK, Al-Nassir WN, Nerandzic MM, Bobulsky GS, Donskey CJ. Persistence of skin contamination and environmental shedding of *Clostridium difficile* during and after treatment of *C. difficile* infection. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2010; 31:21-7.
- 195 Barlam TF, Cosgrove SE, Abbo LM, et al. Executive summary: implementing an antibiotic stewardship program: guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America. *Clin Infect Dis* 2016; 62:1197-202.
- 196 Pattani R, Palda VA, Hwang SW, Shah PS. Probiotics for the prevention of antibiotic-associated diarrhea and *Clostridium difficile* infection among hospitalized patients: systematic review and meta-analysis. *Open Med* 2013; 7:e56–67.
- 197 Goldenberg JZ, Ma SS, Saxton JD, et al. Probiotics for the prevention of *Clostridium difficile*-associated diarrhea in adults and children. *Cochrane Database Syst Rev* 2013; 5.
- 198 Johnson S, Maziade PJ, McFarland LV, et al. Is primary prevention of *Clostridium difficile* infection possible with specific probiotics? *Int J Infect Dis* 2012;16:e786–92.
- 199 Dubberke ER, Butler AM, Yokoe DS, et al. Multicenter study of *Clostridium difficile* infection rates from 2000 to 2006. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2010;31:1030-7.
- 203 Garey KW, Sethi S, Yadav Y, DuPont HL. Meta-analysis to assess risk factors for recurrent *Clostridium difficile* infection. *J Hosp Infect* 2008; 70:298-304.
- 204 Mullane KM, Miller MA, Weiss K, et al. Efficacy of fidaxomicin versus vancomycin as therapy for *Clostridium difficile* infection in individuals taking concomitant antibiotics for other concurrent infections. *Clin Infect Dis* 2011; 53:440-7.
- 205 Koo HL, Koo DC, Musher DM, DuPont HL. Antimotility agents for the treatment of *Clostridium difficile* diarrhea and colitis. *Clin Infect Dis* 2009; 48:598–605.
- 206 Wilcox MH, Howe R. Diarrhoea caused by *Clostridium difficile*: response time for treatment with metronidazole and vancomycin. *J Antimicrob Chemother* 1995;36:673–9.
- 216 McPherson S, Rees CJ, Ellis R, Soo S, Panter SJ. Intravenous immunoglobulin for the treatment of severe, refractory, and recurrent *Clostridium difficile* diarrhea. *Dis Colon Rectum* 2006; 49:640–5.
- 217 Leung DY, Kelly CP, Boguniewicz M, Pothoulakis C, LaMont JT, Flores A. Treatment with intravenously administered gamma globulin of chronic relapsing colitis induced by *Clostridium difficile* toxin. *J Pediatr* 1991;118:633–7.
- 218 Salcedo J, Keates S, Pothoulakis C, et al. Intravenous immunoglobulin therapy for severe *Clostridium difficile* colitis. *Gut* 1997; 41:366–70.
- 219 Wilcox MH. Descriptive study of intravenous immunoglobulin for the treatment of recurrent *Clostridium difficile* diarrhoea. *J Antimicrob Chemother* 2004;53:882–4.
- 220 Larson KC, Belliveau PP, Spooner LM. Tigecycline for the treatment of severe *Clostridium difficile* infection. *Ann Pharmacother* 2011; 45:1005–10.
- 221 Herpers BL, Vlamincx B, Burkhardt O, et al. Intravenous tigecycline as adjunctive or alternative therapy for severe refractory *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis* 2009; 48:1732–5.
- 222 Lamontagne F, Labbé AC, Haeck O, et al. Impact of emergency colectomy on survival of patients with fulminant *Clostridium difficile* colitis during an epidemic caused by a hypervirulent strain. *Ann Surg* 2007; 245:267–72.
- 228 Kyne L, Warny M, Qamar A, Kelly CP. Association between antibody response to toxin A and protection against recurrent *Clostridium difficile* diarrhoea. *Lancet* 2001; 357:189-93.
- 229 Nair S, Yadav D, Corpuz M, Pitchumoni CS. *Clostridium difficile* colitis: factors influencing treatment failure and relapse—a prospective evaluation. *Am J Gastroenterol* 1998; 93:1873–6.

- 233 Surawicz CM, McFarland LV, Greenberg RN, et al. The search for a better treatment for recurrent *Clostridium difficile* disease: use of high-dose vancomycin combined with *Saccharomyces boulardii*. *Clin Infect Dis* 2000; 31:1012-7.
- 234 McFarland LV, Surawicz CM, Greenberg RN, et al. A randomized placebo-controlled trial of *Saccharomyces boulardii* in combination with standard antibiotics for *Clostridium difficile* disease. *JAMA* 1994; 271:1913-8.
- 235 Wullt M, Hagslatt ML, Odenholt I. *Lactobacillus plantarum* 299v for the treatment of recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhoea: a double-blind, placebo-controlled trial. *Scand J Infect Dis* 2003; 35:365-7.
- 239 Aas J, Gessert CE, Bakken JS. Recurrent *Clostridium difficile* colitis: case series involving 18 patients treated with donor stool administered via a nasogastric tube. *Clin Infect Dis* 2003; 36:580-5.
- 240 Bakken JS. Fecal bacteriotherapy for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Anaerobe* 2009; 15:285-9.
- 241 Gough E, Shaikh H, Manges AR. Systematic review of intestinal microbiota transplantation (fecal bacteriotherapy) for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis* 2011; 53:994-1002.
- 242 Guo B, Harstall C, Louie T, Veldhuyzen van Zanten S, Dieleman LA. Systematic review: faecal transplantation for the treatment of *Clostridium difficile*-associated disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 35:865-75.
- 243 MacConnachie AA, Fox R, Kennedy DR, Seaton RA. Faecal transplant for recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhoea: a UK case series. *QJM* 2009; 102:781-4.
- 244 Brandt LJ, Aroniadis OC, Mellow M, et al. Long-term follow-up of colonoscopic fecal microbiota transplant for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Am J Gastroenterol* 2012; 107:1079-87.
- 245 Hamilton MJ, Weingarden AR, Sadowsky MJ, Khoruts A. Standardized frozen preparation for transplantation of fecal microbiota for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Am J Gastroenterol* 2012; 107:761-7.
- 246 Jorup-Ronstrom C, Hakanson A, Sandell S, et al. Fecal transplant against relapsing *Clostridium difficile*-associated diarrhea in 32 patients. *Scand J Gastroenterol* 2012; 47:548-52.
- 247 Mattila E, Uusitalo-Seppala R, Wuorela M, et al. Fecal transplantation, through colonoscopy, is effective therapy for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Gastroenterology* 2012; 142:490-6.
- 263 Marshak RH, Lester LJ. Megacolon a complication of ulcerative colitis. *Gastroenterology*, 1950; 16:768-772.
- 264 Jalan KN, Sircus W, Card WI, Bruce J, Falconer CW, Small WP, Smith AN, McManus JPA. Toxic dilatation of the colon - An experience of 55 cases. *Gut*, 1967; 8:633-638.
- 265 Dansinger ML, Johnson S, Jansen PC, Opstad NL, Bettin KM, Gerding DN. Protein-losing enteropathy is associated with *Clostridium difficile* diarrhea but not with asymptomatic colonization: a prospective, case-control study. *Clin Infect Dis*. 1996; 22(6):932.
- 266 Rybolt AH, Bennett RG, Laughon BE, Thomas DR, Greenough WB 3rd, Bartlett JG. Protein-losing enteropathy associated with *Clostridium difficile* infection. *Lancet*. 1989; 1(8651):1353.
- 269 Jacobs A, Barnard K, Fishel R, Gradon JD. Extracolonic manifestations of *Clostridium difficile* infections. Presentation of 2 cases and review of the literature. *Medicine (Baltimore)*. 2001; 80(2):88.
- 272 Shmerling R, Caliendo A. Case records of the Massachusetts General Hospital. Weekly clinicopathological exercises. Case 19-1998. A 70-year-old man with diarrhea, polyarthritis, and a history of Reiter's syndrome. *N. Engl. J. Med*. 1998; 338(25):1830.
- 273 Gupta A, Patel R, Baddour LM, Pardi DS, Khanna S. Extraintestinal *Clostridium difficile* infections: a single-center experience. *Mayo Clin Proc*. 2014; 89(11):1525.
- 274 Triadafilopoulos G, Hallstone AE. Acute abdomen as the first presentation of pseudomembranous colitis. *Gastroenterology*. 1991; 101(3):685.
- 275 Gravet A, Rondeau M, Harf-Monteil C, Grunenberger F, Monteil H, Scheftel JM, Prévost G. Predominant *Staphylococcus aureus* isolated from antibiotic-associated diarrhea is clinically relevant and produces enterotoxin A and the bicomponent toxin LukE-lukD. *J. Clin. Microbiol*. 1999; 37(12):4012.
- 276 Högenauer C, Langner C, Beubler E, Lippe IT, Schicho R, Gorkiewicz G, Krause R, Gerstgrasser N, Krejs GJ, Hinterleitner TA. *Klebsiella oxytoca* as a causative organism of antibiotic-associated hemorrhagic colitis. *N. Engl. J. Med*. 2006; 355(23):2418.
- 277 Sparks SG, Carman RJ, Sarker MR, McClane BA. Genotyping of enterotoxigenic *Clostridium perfringens* fecal isolates associated with antibiotic-associated diarrhea and food poisoning in North America. *J. Clin. Microbiol*. 2001; 39(3):883.
- 278 Polage CR, Solnick JV, Cohen SH. Nosocomial diarrhea: evaluation and treatment of causes other than *Clostridium difficile*. *Clin. Infect. Dis*. 2012; 55(7):982.
- 279 Hovius SE, Rietra PJ. *Salmonella* colitis clinically presenting as a pseudomembranous colitis. *Neth. J. Surg*. 1982; 34(2):81.
- 280 LaMont JT, Trnka YM. Therapeutic implications of *Clostridium difficile* toxin during relapse of chronic inflammatory bowel disease. *Lancet*. 1980; 1(8165):381.
- 281 Greenfield C, Aguilar Ramirez JR, Pounder RE, Williams T, Danvers M, Marper SR, Noone P. *Clostridium difficile* and inflammatory bowel disease. *Gut*. 1983; 24(8):713.

- 294 Selinger C, Greer S, Sutton C. Is gastrointestinal endoscopy a risk factor for Clostridium difficile associated diarrhea? American Journal of Infection Control, 2010; 38(7):581-582.
- 295 Wijarnpreecha K, Sornprom S, Thongprayoon C, Phatharacharukul P, Cheungpasitporn W. Nasogastric tube and outcomes of Clostridium difficile infection: A systematic review and meta-analysis. J. Evid. Based. Med. 2018; 11(1):40-45.
- 300 Vancomicină PharmaSwiss, 500 mg / 1000 mg, <https://www.csid.ro/medicamente/vancomicina-pharmaswiss-500-mg-1000-mg-pulbere-pentru-solutie-perfuzabila-11364546>.
- 303 UV/VIS Spectroscopy, <http://www.upv.es/herme/files/3b-uv-vis-spectroscopy.pdf>.
- 304 ORDIN privind aprobarea detalierii pe județe a numărului total de paturi, pe anul 2019, <http://www.ms.ro/2019/03/06/ordin-privind-aprobarea-detalierii-pe-judete-a-numarului-total-de-paturi-pe-anul-2019-din-unitatile-sanitare-publice-si-private-pentru-care-casele-de-asigurari-de-sanatate-pot-incheia-contracte-de-f/>
- 310 The R Project for Statistical Computing, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2019 <https://www.R-project.org/>
- 311 Loo VG, Bourgault AM, Poirier L, et al. Host and pathogen factors for Clostridium difficile infection and colonization. The New England Journal of Medicine. 2011; 365:1693–703.
- 312 Pepin J, Valiquette L, Alary M, et al. Clostridium difficile-associated diarrhea in a region of Quebec from 1991 to 2003: a changing pattern of disease severity. Canadian Medical Association Journal. 2004; 31:466–72.
- 313 Wynell-Mayow W, Cash D, Muniz-Tererra G, Gkrania-Klotsas E, Khanduja V. Factors Affecting Mortality and Length of Stay Following Clostridium Difficile Associated Diarrhoea: Validating A Consistent Scoring System. Archives of Clinical Microbiology. 2017, 8:3, doi: 10.4172/1989-8436.100046
- 314 Mamie P, Heidenreich PA, Hedlin H, Tennakoon L, Staudenmayer KL. Hospitalized Patients with Heart Failure and Common Bacterial Infections: A Nationwide Analysis of Concomitant Clostridium Difficile Infection Rates and In-Hospital Mortality. Journal of Cardiac Failure. 2016; 22(11):891-900.
- 315 Crabtree T, Aitchison D, Meyers BF, Tymkew H, Smith JR, Guthrie TJ, Munfakh N, Moon MR, Pasque MK, Lawton J, Moazami N, Damiano RJ Jr. Clostridium Difficile in Cardiac Surgery: Risk Factors and Impact on Postoperative Outcome. The Annals of Thoracic Surgery. 2007; 83(4):1396-402.
- 316 Kling J. Diabetes, Stroke Linked to C. difficile [https://www.caringfortheages.com/article/S1526-4114\(16\)30368-7/pdf](https://www.caringfortheages.com/article/S1526-4114(16)30368-7/pdf)
- 317 Rogers M, Greene T, Young V, Saint S, Langa K, Kao J, Aronoff D. Depression, antidepressant medications, and risk of Clostridium difficile infection. BMC Medicine. 2013; 11(121)
- 318 de Miguel-Díez J, López-de-Andrés A, Esteban-Vasallo MD, Hernández-Barrera V, de Miguel-Yanes JM, Méndez-Bailón M, Jiménez-García R. Clostridium difficile infection in hospitalized patients with COPD in Spain (2001-2015). European Journal of Internal Medicine. 2018; 57:76-82.
- 319 Keddis MT, Khanna S, Noheria A, Baddour LM, Pardi DS, Qian Q. Clostridium difficile Infection in Patients With Chronic Kidney Disease. Mayo Clinic Proceedings. 2012; 87(11): 1046–1053.
- 320 Dudzicz S, Adamczak M, Więcek A. Clostridium Difficile Infection in the Nephrology Ward. Kidney and Blood Pressure Research. 2017; 42(5):844-852.
- 321 Delgado A, Reveles I, Cabello F, Reveles K. Poorer outcomes among cancer patients diagnosed with Clostridium difficile infections in United States community hospitals. BMC Infectious Diseases. 2017; 17:448.
- 322 Baiomi A, Abbas H, Pirzada U, Zaidi B, Saturno D, Nayudu SK. Charlson Comorbidity Index (CCI): An Independent Predictor of Outcomes in Clostridium difficile Infection (CDI). American Journal of Gastroenterology. 2018; 113:S1525.
- 323 Bilgrami S, Feingold JM, Dorsky D, et al. Incidence and outcome of Clostridium difficile infection following autologous peripheral blood stem cell transplantation. Bone Marrow Transplant. 1999; 23:1039–42.
- 324 Gorschluter M, Glasmacher A, Hahn C, et al. Clostridium difficile infection in patients with neutropenia. Clin. Infect. Dis. 2001; 33:786–91.
- 325 Thibault A, Miller MA, Gaese C. Risk factors for the development of Clostridium difficile-associated diarrhea during a hospital outbreak. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 1991; 12:345–8.
- 326 Deshpande A, Pasupuleti V, Thota P, et al. Community-associated Clostridium difficile infection and antibiotics: a meta-analysis. J. Antimicrob. Chemother. 2013; 68(9):1951-1961.
- 341 Krapohl GL, Morris AM, Cai S, Englesbe MJ, Aronoff DM, et al. (2013) Preoperative risk factors for postoperative Clostridium Difficile infection in colectomy patients. Am J Surg 205: 343-347.
- 344 Kim MJ, Kim BS, Kwon JW, Ahn SE, Lee SS, et al. (2012) Risk factors for the development of Clostridium Difficile colitis in a surgical ward. J Korean Surg. Soc. 83: 14-20.
- 353 Tedesco FJ, Gordon D, Fortson WC. Approach to patients with multiple relapses of antibiotic-associated pseudomembranous colitis. Am J Gastroenterol. 1985;80(11):867.

- 354 Kyne L, Warny M, Qamar A, Kelly CP. Association between antibody response to toxin A and protection against recurrent *Clostridium difficile* diarrhoea. *Lancet*. 2001;357(9251):189.
- 355 Pépin J, Routhier S, Gagnon S, Brazeau I. Management and outcomes of a first recurrence of *Clostridium difficile*-associated disease in Quebec, Canada. *Clin Infect Dis*. 2006;42(6):758.
- 356 Gupta SB, Mehta V, Dubberke ER, Zhao X, Dorr MB, Guris D, Molrine D, Leney M, Miller M, Dupin M, Mast TC. Antibodies to Toxin B Are Protective Against *Clostridium difficile* Infection Recurrence. *Clin Infect Dis*. 2016;63(6):730.
- 357 Walters BA, Roberts R, Stafford R, Seneviratne E. Relapse of antibiotic associated colitis: endogenous persistence of *Clostridium difficile* during vancomycin therapy. *Gut*. 1983;24(3):206.
- 358 Young G, McDonald M. Antibiotic-associated colitis: why do patients relapse? *Gastroenterology*. 1986;90(4):1098.
- 359 Wilcox MH, Fawley WN, Settle CD, Davidson A. Recurrence of symptoms in *Clostridium difficile* infection--relapse or reinfection? *J Hosp Infect*. 1998;38(2):93.
- 360 Kamboj M, Khosa P, Kaltsas A, Babady NE, Son C, Sepkowitz KA. Relapse versus reinfection: surveillance of *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis*. 2011 Nov;53(10):1003-6.