



UNIVERSITATEA
LUCIAN BLAGA
— DIN SIBIU —

Școala doctorală interdisciplinară

Domeniul de doctorat: Medicină

TEZĂ DE DOCTORAT

**PREVENȚIA RECURENȚELOR
INFECȚIOASE CU CLOSTRIDIUM
DIFFICILE - ROLUL TRANSPLANTULUI
DE MATERII FECALE**

doctorand:

IULIAN-DANIEL POPA

Conducător Doctorat:

Prof. univ. dr. MANUELA MIHALACHE

SIBIU 2022

Cuprins

INTRODUCERE	Error! Bookmark not defined.
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	Error! Bookmark not defined.
1. Epidemiologia infecției cu Clostridium difficile	Error! Bookmark not defined.
2. Patogeneza infecției cu Clostridium difficile	Error! Bookmark not defined.
3. Factori de risc ai infecției cu Clostridium difficile	Error! Bookmark not defined.
4. Manifestări clinice în infecția cu Clostridium difficile. Definiții de caz ..	Error! Bookmark not defined.
5. Diagnosticul infecției determinate de Clostridium difficile	Error! Bookmark not defined.
5.1. Diagnostic etiologic	Error! Bookmark not defined.
5.2. Indicații de testare	Error! Bookmark not defined.
5.3. Recoltare și transport	Error! Bookmark not defined.
5.4. Metode de detecție	Error! Bookmark not defined.
5.4.1 Metode de referință	Error! Bookmark not defined.
5.4.2. Metode rapide de dedecție	Error! Bookmark not defined.
5.5 Algoritm de diagnostic	Error! Bookmark not defined.
5.6 Diagnosticul pozitiv	Error! Bookmark not defined.
5.7 Definiții de caz	Error! Bookmark not defined.
5.8. Diagnostic diferențial	Error! Bookmark not defined.
6. Prevenția infecției cu Clostridium difficile	Error! Bookmark not defined.
7. Tratamentul infecției cu Clostridium difficile	Error! Bookmark not defined.
CONTRIBUTIA PERSONALĂ	Error! Bookmark not defined.
1. Ipoteză de lucru	Error! Bookmark not defined.
2. Pacienți și metodă	Error! Bookmark not defined.
2.1. Design-ul studiului	6
2.2. Caracteristici clinice și demografice ale pacienților	Error! Bookmark not defined.
2.3. Definiții	Error! Bookmark not defined.
2.4. Transferul de materii fecale	Error! Bookmark not defined.
2.5. Analiza statistică	6
3. Rezultate	Error! Bookmark not defined.
3.1. Genul pacienților	Error! Bookmark not defined.

3.2. Vârsta pacienților	Error! Bookmark not defined.
3.3. Distribuția cazurilor pe ani	Error! Bookmark not defined.
3.4. Factori de risc	Error! Bookmark not defined.
3.4.1. Comorbidități	Error! Bookmark not defined.
3.4.2. Tratament antibiotic anterior episodului ICD primare	Error! Bookmark not defined.
3.4.3. Medicație antisecretorie gastrică	Error! Bookmark not defined.
3.4.4. Intervenții chirurgicale anterior ICD primare	Error! Bookmark not defined.
3.5. Forme clinice de severitate	Error! Bookmark not defined.
3.5.1. Vârsta ca factor de risc al dezvoltării unei forme severe	Error! Bookmark not defined.
3.5.2. Comorbiditățile ca factor de risc al dezvoltării unei forme severe	Error! Bookmark not defined.
3.5.3. Antibioticele ca factor de risc al dezvoltării unei forme severe	Error! Bookmark not defined.
3.5.4. Medicația antisecretorie gastrică ca factor de risc al dezvoltării unei forme severe	Error! Bookmark not defined.
3.5.5. Intervențiile chirurgicale ca factor de risc al dezvoltării unei forme severe	Error! Bookmark not defined.
3.6. Profilul tratamentului antibiotic în funcție de numărul episodului infecțios	Error! Bookmark not defined.
3.6.1. Profilul tratamentului antibiotic în tratamentul primului episod de infecție cu Clostridium difficile	Error! Bookmark not defined.
3.6.2. Profilul tratamentului antibiotic în tratamentul celui de-al doilea episod de infecție cu Clostridium difficile	Error! Bookmark not defined.
3.6.3. Profilul tratamentului antibiotic în tratamentul celui de-al treilea episod de infecție cu Clostridium difficile	Error! Bookmark not defined.
3.7. Profilul tratamentului antibiotic în formele severe	Error! Bookmark not defined.
3.8. Transplantul de materii fecale	Error! Bookmark not defined.
3.7. Recurența infecțioasă post TMF	Error! Bookmark not defined.
3.7.1. Riscul de recădere în funcție de numărul episodului la care s-a efectuat TMF	Error! Bookmark not defined.
3.7.2. Vârsta ca factor de risc al recăderii postTME	Error! Bookmark not defined.
3.7.3. Comorbiditățile ca factor de risc al recăderii postTME	Error! Bookmark not defined.
3.7.4. Uzul și tipurile antibioticelor ca factor de risc al recăderii postTME	Error! Bookmark not defined.

3.7.5. Medicația antisecretorie gastrică ca factor de risc al recăderii postTMF...	Error! Bookmark not defined.
3.7.6. Intervențiile chirurgicale ca factor de risc al recăderii postTMF.....	Error! Bookmark not defined.
3.7.7. Riscul de recădere în funcție de factori de severitate	Error! Bookmark not defined.
3.7.8. Profilul antibiotic în recăderile posttransplant de materii fecale.....	Error! Bookmark not defined.
3.7.9. Riscul de recădere în funcție de numărul episodului infecțios.....	Error! Bookmark not defined.
4. Discuții.....	Error! Bookmark not defined.
5. Concluzii.....	Error! Bookmark not defined.
6. Studiu de caz	Error! Bookmark not defined.
7. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei	Error! Bookmark not defined.
REFERINȚE.....	Error! Bookmark not defined.

Infecția cu Clostridium difficile(ICD) reprezintă o problemă majoră de sănătate publică, atât în România cât și în întreaga lume, prin creșterea incidenței și a severității acesteia.

Clostridium difficile(CD), este o bacterie anaerobă, Gram pozitivă, sporulată recunoscută ca factor etiologic principal al diareei asociate tratamentului antibiotic, reprezintă cauza cea mai frecventă de boală diareică asociată sistemului de sănătate, responsabilă de o importantă morbiditate și mortalitate.

Pentru producerea ICD sunt necesare cel puțin 2 condiții: alterarea florei intestinale normale, determinând scăderea rezistenței împotriva colonizării cu Clostridium difficile și achiziția organismului dintr-o sursă exogenă. Alți factori sunt reprezentați de susceptibilitatea gazdei, virulența tulpinilor , de natura și perioada de expunere la antibiotice.

Mecanismul de transmitere al infecție este fecal-oral, omul excretor (sanătos sau bolnav) reprezintă sursa de infecție , existând mai mult de 400 de tulpini de Clostridium difficile, însă doar tulpinile producătoare de toxine duc la apariția afecțiunii.

De departe cel mai important factor de risc este uzul de antibiotice în perioada premergătoare debutului, chiar și sub forma unei singure doze profilactice, aproape orice antibiotic poate duce

la apariția infecției. Dacă asupra unor factori de risc nu se poate interveni (vârsta), s-a încercat implementarea de ghiduri pentru utilizarea judicioasă a antibioterapiei și măsuri epidemiologice specifice pentru pacienții infectați spitalizați, cu toate acestea numărul infecțiilor nu a scăzut. Alți factori de risc au fost incriminați: medicația antisecretorie, comorbiditățile, statusul imunodeprimat.

ICD ar trebuie suspectată la toți pacienții cu diaree nosocomială, pacienți cu diaree neexplicată și debut nou de ≥ 3 scaune neformate/24 ore (tipurile 5-7 pe scara Bristol), diaree postantibioterică cu origine comunitară, pacienți vârstnici, cei ce au avut ca tratament antibiotice, imunosupresoare sau antisecretorii gastrice, cei ce nu aparțin unui focar de boală diareică acută din comunitate, aceștia reprezentând populația țintă de testat.

ICD devine manifestă doar în cazul producerii de toxine, formele netoxigene neproducând boala diareică, astfel diagnosticul se bazează pe identificarea toxinelor fie direct din materiile fecale, fie din culturi de *Clostridium difficile*.

Diagnosticul ICD este provocator, neexistând un test de laborator perfect sau un test de referință universal. A existat o dispută legată de care din testele de referință, cell cytotoxicity neutralisation assay (CCNA) or toxigenic culture (TC), ar trebui considerat gold standardul pentru detecția infecției, însă fiecare are puncte forte, dar și limitări, astfel datorită acestor imperfecțiuni ale testelor, o combinație de teste a fost propusă pentru îmbunătățirea rezultatelor. Societatea Europeană de Microbiologie Clinică și Boli Infecțioase (ESCMID), recomandă utilizarea unui algoritm de diagnostic în mai multe etape pentru creșterea acurateții diagnostice, raționamentul fiind de a utiliza un test cu sensibilitate ca primă etapă, ulterior un test cu specificitate înaltă. ESCMID recomandă ca primă etapă diagnostică testarea GDH (NAD-specific glutamate dehydrogenase) sau NAAT (Nucleic acid amplification tests). Sensibilitatea mare a acestor teste le conferă o valoare predictivă negativă foarte bună, astfel că un rezultat negativ este foarte probabil indicator al absenței ICD. În a doua etapă diagnostică, dacă primul test este pozitiv se recomandă teste de detecție a toxinelor A și B, teste cu o specificitate foarte înaltă, ce le conferă o valoare predictivă pozitivă mare, astfel că dacă cel de-al doilea test este pozitiv, prezența infecției este confirmată. În cazul unor teste inițiale pozitive și a unui test negativ în a doua etapă se consideră rezultatul ca fiind ambiguu recomandându-se efectuarea culturilor toxigenice. Un algoritm alternativ recomandat de ESCMID este analizare concomitentă

a GDH și a prezenței toxinelor ca primă etapă , ulterior TC sau NAAT în cazul unor rezultate ambigue. Endoscopia digestivă inferioară este o metodă foarte utilă pentru pacienții cu simptome sugestive de ICD și teste negative sau în cazurile în care nu este posibilă obținerea unei probe pentru testare, în caz de ileus, nefiind însă utilizată de rutină pentru pacienți cu simptome tipice și teste de laborator pozitive.

Recomandările de tratament ale infecției cu *Clostridium difficile* au evoluat și modificat de-a lungul anilor. În 2018 recomandările ca tratament de primă linie sunt vancomicina sau fidaxomicina , timp de 10 zile. Concomitent cu măsurile de tratament specifice, alte măsuri de tratament suplimentare includ: întreruperea tratamentelor antimicrobiene inutile, corecția dezechilibrelor hidro-electrolitice, evitarea medicației ce inhibă motilitatea , revizuirea tratamentului cu inhibitori de pompa de protoni

Deși pacienții cu ICD , în marea lor majoritate, răspund favorabil la terapie medicamentoasă antibiotică specifică, un procent semnificativ vor prezenta una sau mai multe recăderi , iar riscul de recădere crește odată cu creșterea numărului episodului infecțios. După un prim episod ICD, 11-25% din pacienți vor prezenta o recădere în primele 30 de zile de la terminarea tratamentului antibiotic specific . După o primă recădere(al doilea episod ICD) până la 46.2% din pacienți vor prezenta o doua recădere, riscul de recădere continuând să crească, ajungând la 50-60% după a doua recădere(al treilea episod ICD).

Aceste recăderi sunt generatoare de costuri suplimentare pentru sistemul medical , morbiditate și risc de deces.

Deși utilizat empiric de multe secole pentru tratamentul unor forme de diaree, prima documentare a utilizării unei suspensii de materii fecale umane pentru tratamentul unor forme severe de diaree datează din secolul al 4-lea în China , transplantul de materii fecale(TMf) s-a afirmat ca modalitate de tratament extrem de eficientă pentru pacienții cu recăderi multiple sau în formele severe ale infecției cu *Clostridium difficile*. Încă există semne de întrebare asupra profilului de siguranță pe termen lung, însă complicațiile imediate severe au fost raportate sporadic. Actualmente, TMf este inclus în Ghidul European de tratament al ICD, pentru recăderi multiple, forme ușoare sau severe de ICD recurente sau refractare, în timp ce în Ghidul American de tratament al ICD după al doilea episod de recurență ICD.

Ipoteză de lucru

Rolul TMF în tratamentul primului episod infecțios cu *Clostridium difficile* nu este încă stabilit, există date insuficiente la acest moment pentru a recomanda TMF de la primul episod infecțios, indiferent că este o formă ușoară sau severă/complicată , un număr mic de pacienți fiind raportați până în prezent.

Obiectivul principal al acestui studiu a fost determinarea riscului de recurență postTMF , TMF efectuat după un tratament antibiotic complet de 10 zile și dispariția simptomelor, în cazul infecției *Clostridium difficile*, infecție primară severă. Obiectivele secundare au fost: rata de succes generală(primară și secundară) a TMF indiferent de numărul episodului infecțios , rata de succes a TMF după o formă severă, identificarea factorilor de risc ai recurențelor postTMF, determinarea riscurilor de recurență postTMF la al doilea sau al treilea episod de ICD severă.

Design-ul studiului

Acest studiu a fost un studiu retrospectiv care a analizat caracteristicile și rezultatele a 96 de pacienți cărora li s-a efectuat transplant de materii fecale în perioada Ianuarie 2015-Iulie 2019 , pacienți aflați la primul, al doilea sau al treilea episod de infecție cu *Clostridium difficile*.

Transplanturile de materii fecale au fost efectuate în Spitalul Clinic Județean de Urgență Sibiu și Clinica Polisano Sibiu.

Analiza statistică

Datele sunt prezentate sub formă procentuală, mediană. Potențialii factorii de risc au fost : vârsta(calculată ca variabilă numerică în ani) și următoarele variabile categoriale: a) gen, b) comorbidități(neoplasme maligne, boli hematologice, diabet zaharat, boli cronice digestive, afecțiuni cardiovasculare, insuficiență renală) , c) manifestări clinice și modificări paraclinice(leucocitoză, creatinina serică, temperatura, semne de șoc septic, prezența pseudomembranelor la colonoscopie), d) antibioterapie și uzul de medicație antisecretorie gastrică anterior primului episod ICD, clase de antibiotice(aminopeniciline ±betalactam, cefalosporine, fluoroquinolone, clindamicină, carbapeneme). Atât rezultatele primare , cât și cele secundare au fost interpretate ca variabile categoriale: a) recurența postTMF după ICD

primară severă, b) rata generală de succes, c) rata de succes după o formă severă, d) recurență postTMF după al doilea sau al treilea episod ICD, e) rata de succes generală secundară.

Am utilizat Fisher exact test pentru variabilele categoriale și respectiv, Mann-Whitney test pentru variabilele continue. Valoare $p < 0.05$ a fost considerată ca semnificativă statistic. Totuși, am considerat "tendința din studiile clinice", că este potrivită și relevantă clinic pentru acest studiu retrospectiv, cu un număr relativ redus de subiecți și am utilizat o valoare relaxată a nivelului alfa de 0.10.

Rezultate

Acest studiu include 96 de pacienți cărora li s-a efectuat un transplant de materii fecale pe perioada desfășurării studiului (Ianuarie 2015-Iulie 2019), iar la 11 dintre ei s-a efectuat un al doilea TMF.

Datele demografice și clinice ale pacienților sumarizate

Număr de pacienți	96
Vârstă	
Mediana, ani(interval)	68.5 (20–89)
20-39 ani, <i>n</i> (%)	15(15.6)
40-59 ani, <i>n</i> (%)	13(13.5)
60-79 ani, <i>n</i> (%)	56(58.3)
80-90 ani, <i>n</i> (%)	12(12.5)
> 65 ani, <i>n</i> (%)	58 (60.4)
Gen	
Femei, <i>n</i> (%)	67 (69.8)
Bărbați, <i>n</i> (%)	29 (30.2)
Comorbidități	
Fără, <i>n</i> (%)	16 (16.7)
Neoplasme maligne, <i>n</i> (%)	15(15.6)
Diabet zaharat, <i>n</i> (%)	13(13.5)
Boli hematologice, <i>n</i> (%)	11(11.5)
Boli cardiovasculare, <i>n</i> (%)	58(60.4)
Boli cronice digestive, <i>n</i> (%)	38(39.6)
Insuficiență renală <i>n</i> (%)	14(14.6)
≥ 2, <i>n</i> (%)	46(47.9)
Tratament antibiotic anterior ICD	
Fără, <i>n</i> (%)	30(31.3)

Aminopeniciline±beta lactam, <i>n</i> (%)	14(14.6)
Cefalosporine, <i>n</i> (%)	41(42.7)
Fluoroquinolone, <i>n</i> (%)	27(28.1)
Carbapeneme, <i>n</i> (%)	6(6.3)
Clindamicin, <i>n</i> (%)	1(1)
Asocieri, <i>n</i> (%)	23(24)
Medicație antisecretorie gastrică	
Nu , <i>n</i> (%)	65(67.7)
Da, <i>n</i> (%)	31(32.3)

85 de pacienți cărora li s-a efectuat un prim transplant de materii fecale nu au prezentat o recădere ICD , reprezentând o rată de succes primară generală de 88.5%, indiferent de forma de severitate, în timp ce 11 pacienți(11.5%) cu un prim transfer de materii fecale efectuat au prezentat o recădere ICD.

Din 96 de pacienți cu TMF, la 25 de pacienți(26%) transplantul de materii fecale s-a efectuat la primul episod infecțios, la 52 de pacienți(54%) transplantul s-a efectuat la al doilea episod infecțios, iar la 19 de pacienți(20%) transplantul s-a efectuat al treilea episod infecțios.

Rata de succes generală a TMF(incluzând atât formele non-severe, cât și formele severe) per episod infecțios a fost de 92% pentru primul episod ICD, 88.4% pentru al doilea episod ICD, respectiv 84.2% pentru al treilea episod ICD.

1 pacient cu o formă severă aflat la al doilea episod infecțios a decedat din cauze nelegate de transplantul de materii fecale.

Din cei 11 pacienți cu recădere posttransplant de materii fecale, la 2 pacienți transplantul s-a efectuat după primul episod infecțios, o rată de recădere postFMT de 8% , la 6 pacienți transplantul s-a efectuat după al doilea episod infecțios, 11.5 % rată de recădere postFMT , iar la 3 pacienți transplantul s-a efectuat după al treilea episod infecțios, 15.8 % rată de recădere postTMF.

Din cei 11 pacienți cu recădere , 9 pacienți au prezentat recădere după o formă severă de boală(o rata de succes inițială a TMF în formele severe de 85.7%), astfel 1 pacient cu formă severă la

care TMF s-a efectuat la primul episod infecțios, reprezentând o rată de recădere de 5.26%, 5 pacienți cu formă severă au recăzut după TMF efectuat la al doilea episod infecțios reprezentând o rată de recădere de 15.15 % și toți cei 3 pacienți recăzuți după TMF efectuat la al treilea episod infecțios aveau o formă severă de boală, reprezentând o rată de recădere de 27.3 %.

Analiza riscului de recădere în funcție de numărul episodului infecțios la care s-a efectuat TMF pentru pacienții cu formă severă, a relevat un risc de recădere când TMF s-a realizat la al 2-lea episod infecțios($p=0.009$) sau al 3-lea episod infecțios($p=0.000$) , dar riscul este absent când TMF se realizează după primul episod infecțios($p=0.279$).

Dintre pacienții cu TMF efectuat pentru ICD nonseveră 1 pacient(16.6%) a recăzut după TMF efectuat pentru ICD primară , iar un alt pacient (5.26% din total) a recăzut după TMF efectuat la al doilea episod ICD, rezultând o rată de succes primară de 93.94%.

Pacienții cu un al doilea TMF, atât cu forme severe, cât și nonsevere, nu au mai prezentat o altă recădere ICD pe perioada urmăririi acestora, rezultând o rată de succes secundară de 100%.

Riscul de dezvoltare a unor forme severe ICD este semnificativ în cazul pacienților cu afecțiuni cardiovasculare, a pacienților cu uz anterior de carbapeme sau medicație antiacidă gastrică.

Vârsta, prezența comorbidităților, uzul antibioticelor sau medicația antisecretorie gastrică nu au reprezentat factori de risc ai recăderii postTMF

În acesta lucrare este prezentat , de asemenea un studiu de caz , prima comunicare din literatura medicala, cazul unei paciente cu recăderi multiple ICD pe bont rectal, postcolectomie pentru megacolon toxic indus de infecția cu Clostridium difficile și infecție Clostridium difficile vaginală simptomatică, tratată cu succes cu „minitransplante” fecale seriate și metronidazol ovule.

Concluzii

1. Asocierea antibiotică metronidazol cu vancomicină a fost cea mai utilizată atât pentru tratamentul ICD primare, cât și episoadelor al doilea, respectiv al treilea ICD, dar și pentru tratamentul formele severe ICD.

2. Riscul de dezvoltare a unor forme severe ICD este semnificativ în cazul pacienților cu afecțiuni cardiovasculare, a pacienților cu uz anterior de carbapeme sau medicație antiacidă gastrică.
3. Rata de succes generală primară , incluzând atât formele nonsevere cât și cele severe, a TMF fost de 88.5%.
4. Rata de succes generală a TMF per episod infecțios a fost de 92% pentru primul episod ICD, 88.4% pentru al doilea episod ICD, respectiv 84.2% pentru al treilea episod ICD.
5. Vârsta, prezența comorbidităților, uzul antibioticelor sau medicația antisecretorie gastrică nu au reprezentat factori de risc ai recăderii postTMF.
6. Tigeciclina a fost tratamentul antibiotic cel mai utilizat pentru tratamentul recăderilor ICD posttransplant de materii fecale.
7. Rată de succes primară în formele non-severe a fost de 93.94%.
8. Formele severe cu 1 factor de severitate nu sunt factor de risc la recăderii postTMF , însă formele severe cu ≥ 2 factori de severitate și prezența leucocitozei sunt factori de risc ai recăderii postTMF.
9. Rata de succes primară a TMF pentru formele severe a fost de 85.7%.
10. Studiul de față aduce noi date care susțin rolul benefic al TMF în ICD primare severe, ratele de recădere postTMF în ICD primare severe sunt mai mici decât ratele postterapie medicamentoasă convențională.
11. Există o creștere a ratei de recădere postTMF odată cu numărul episodului ICD.
12. Rata de succes generală secundară a TMF a fost 100%.

Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei

Infecția cu *Clostridium difficile* reprezintă o problemă de sănătate publică actuală atât în România, cât și în întreaga lume prin creșterea incidenței și severității acesteia. În tratamentul formelor recurente ICD , utilizarea transplantului de materii fecale a devenit uzuală. Date specifice despre utilitatea în Romania a TMF pentru tratamentul ICD lipsesc, acest studiu fiind primul ce raportează rate de succes ale TMF , factori de risc ai recăderii postTMF, riscurile de recădere în funcție de numărul episodului la care s-a efectuat TMF.

În momentul actual, TMF este inclus în Ghidul European pentru tratamentul ICD, în cazul recurențelor multiple, cazuri ușoare sau severe rICD , rolul TMF în tratamentul primului episod ICD nu este încă stabilit, există date insuficiente la acest moment pentru a recomanda TMF de la primul episod ICD, indiferent că este o formă ușoară sau severă/complicată. Studiul de față cuprinde cel mai mare număr de pacienți cu TMF pentru ICD primară, formă severă, aducând dovezi pentru utilizarea TMF în cazul pacienților ICD nonrecurentă , formă severă, cu rate de recădere mult mai mici comparativ cu ratele de recădere postterapie medicamentoasă.

Acesta lucrare este prima care compară riscurile de recădere postTMF în funcție de episodul la care s-a efectuat TMF, arătând un risc mai mic de recădere în formele ICD primare severe și că riscul de recădere crește odată cu numărul episodului ICD, date în favoarea efectuării TMF cât mai devreme posibil în cazul formelor severe.

ICD se poate manifesta și prin forme severe/complicate, megacolon toxic, perforații și deces. Am realizat prima comunicare medicală a unui TMF efectuat cu succes pe un bont rectal pentru ICD multiple, dovedind că administrarea seriată, cu volumul cel mai mare tolerat de pacient este o modalitate de tratament eficientă în cazul pacienților cu ICD pe bonturi rectale postcolectomie sau în pauchite refractare la tratamentul antibiotic.