

Iek. Magdalena Iżycka

Epidemiologiczne aspekty nosicielstwa

Clostridioides difficile

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne

Promotor: prof. dr hab. n. med. Jacek Muszyński

**Klinika Gastroenterologii i Chorób Przemiany Materii
oraz Klinika Gastroenterologii i Chorób Wewnętrznych
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego**



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2020

Zakażenie *Clostridioides difficile* (*C. difficile*) jest główną przyczyną biegunek poantybiotykowych szczególnie u osób hospitalizowanych. Kliniczna manifestacja może przebiegać pod postacią od łagodnej do ciężkiej biegunki, ale także jako rzekomoblioniaste zapalenie jelit czy toksyczne rozdęcie okrężnicy (łac. *megacolon toxicum*). W przebiegu zakażenia może dochodzić do różnych powikłań, z których wymienia się perforację jelita, sepsę, a nawet śmierć. W ostatnich latach coraz większą uwagę zwraca się na nosicielstwo *C. difficile*, czyli obecność w przewodzie pokarmowym bakterii bez objawów klinicznych. Zrozumienie epidemiologicznych aspektów nosicielstwa *C. difficile* może przyczynić się do lepszej kontroli i zapobieganiu zakażeniom wywołanym przez *C. difficile* związanym z opieką medyczną.

W niniejszej pracy badano częstość występowania nosicielstwa u pacjentów przy przyjęciu do oddziału oraz na zakończenie hospitalizacji. Analizowano występowanie potencjalnych czynników ryzyka w okresie przedszpitalnym oraz w trakcie pobytu w oddziale. Uwzględniano warunki sanitarne w jakich przebywali chorzy. Ostatnim etapem badania było ustalenie możliwych odległych skutków bycia nosicielem oraz potencjalnych konsekwencji dla rodziny. Równocześnie wraz z kwalifikacją pacjentów do badania sprawdzano obecność kolonizacji przewodu pokarmowego *C. difficile* u pracowników medycznych oddziału, z którego kwalifikowano osoby do udziału w badaniu.

Badanie było prowadzone w dwóch oddziałach szpitala uniwersyteckiego między 2014, a 2017 rokiem. Do badania kwalifikowano kolejno przyjmowanych chorych do klinik. Grupą badaną byli pacjenci, u których stwierdzono kolonizację przewodu pokarmowego *C. difficile*, natomiast kontrolną osoby, u których jej nie potwierdzono. Dodatkowo w kierunku nosicielstwa badano personel lekarski i pielęgniarski.

Każdy pacjent przyjmowany był zobligowany do pobrania próbki stolca do 48 godzin od rozpoczęcia hospitalizacji. Druga próbka była pobierana w dniu wypisu lub w dniu poprzedzającym. Każda próbka kału była pobierana za pomocą jałowej pałeczki do wymazów na podłoże transportowe typu AMIES. Wykonywano posiew próbki do 48 godzin od jej otrzymania na selektywnym podłożu agarowym CLO (*bioMérieux, Marcy l'Etoile, Francja*) i inkubowano w warunkach beztlenowych. Obecność kolonii *C. difficile* potwierdzano na podstawie charakterystycznego zapachu oraz wyglądu kolonii – średnica ok 4-6 mm, nieregularny kształt, poszarpane krawędzie, szare nieprzezroczyste o końskim zapachu. W wątpliwych sytuacjach posiłkowano się metodą spektrometrii masowej w systemie MALDI TOF MS (Bruker, Niemcy). W razie uzyskania dodatniego posiewu z drugiej próbki kału, tzn.

z wypisu wykonywano oznaczenie toksynotwórczości metodą reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym (RT-PCR – ang. *real-time polymerase chain reaction*), który przeprowadzano na aparacie Gen Xpert (Cepheid, Sunnyvale, CA, USA).

Do analizy czynników ryzyka występowania nosicielstwa przed hospitalizacją do badania włączono 131 osób, a pełne dane kliniczne uzyskano od 115 osób i pobrano kompletny materiał do badań mikrobiologicznych. Te osoby uwzględniono w analizie obejmującej czynniki ryzyka nabywania nosicielstwa w trakcie pobytu w oddziale oraz dalszych konsekwencji po zakończeniu hospitalizacji. Spośród wszystkich pacjentów włączonych do badania 24 osoby (16,6%) miały kolonizację *C. difficile* przy przyjęciu do oddziału, a u kolejnych 8 osób (9,4%) stwierdzono nosicielstwo nabyte w trakcie hospitalizacji. W kolejnych okresach, w których byli kwalifikowani chorzy do analizy, obserwowano zwiększanie się odsetka nosicieli przy przyjęciu z 8,8% do 38,7%. Jednocześnie nabywanie nosicielstwa w trakcie hospitalizacji w poszczególnych latach wynosiło odpowiednio 10,4%, 5,0% i 11,8%.

Istotnymi czynnikami ryzyka nabycia nosicielstwa *C. difficile* przed hospitalizacją były choroby układu oddechowego (OR = 4,43; 95% CI: 1,17-16,21; p = 0,023) oraz zespół zależności alkoholowej (OR = 3,26; 95% CI: 1,08-9,37; p = 0,030). Zwraca uwagę również wysoki iloraz szans dla marskości wątroby, choć wynik ten nie był statystycznie istotny. Wśród leków przyjmowanych w ostatnim półroczu ryzyko nosicielstwa zwiększało się 4,11 raza przy leczeniu przeciwdrobnoustrojowym (p = 0,006). Z pośród innych leków stosowanych w ciągu ostatnich 6 miesięcy szanse nosicielstwa zwiększały glikokortykosteroidy (OR = 5,37; 95% CI: 1,37-21,11; p = 0,013) oraz probiotyki (OR = 2,93; 95% CI: 1,15-7,74; p = 0,025).

Analiza nie wykazała istotnych czynników występowania kolonizacji w trakcie hospitalizacji. Jedynym wyjątkiem było tu przyjmowanie antybiotyków z grupy karbapenemów jako znacznie zwiększające szanse na wystąpienie kolonizacji *C. difficile* przewodu pokarmowego (OR = 32,33; p = 0,007). Zaobserwowano zwiększoną szansę nabycia nosicielstwa w przypadku przyjmowania leków przeciwdrobnoustrojowych (OR = 3,58; p = 0,096). Biorąc pod uwagę warunki lokalowo-sanitarne zwrócono uwagę, że sale co najmniej 3-osobowe zwiększają ryzyko nabycia nosicielstwa (OR = 4,64; 95% CI: 1,00-32,96; p = 0,07).

Biorąc pod uwagę łącznie nosicieli przy przyjęciu i przy wypisie czynnikami istotnie wpływającymi na zwiększenie szansy kolonizacji była liczba leków

przeciwdrobnoustrojowych stosowanych w okresie ostatnich sześciu miesięcy. Iloraz szans dla pacjentów przyjmujący jeden lek wyniósł 4,59 (95% CI: 1,28-17,6; $p = 0,021$), a dla przyjmujących co najmniej dwa 3,38 (95% CI: 1,21-10,52; $p = 0,025$). Przyjmowanie metronidazolu istotnie statystycznie zwiększało szansę nosicielstwa (OR = 3,6; 95% CI: 1,34 - 9,95; $p = 0,012$).

Oznaczono toksynotwórczość 16 szczepów *C. difficile*. Stosunek szczepów toksynotwórczych do nietoksynotwórczych wyniósł 3:1. Zdecydowanie przeważały szczepy produkujące samą toksynę B (75%, 9/12). U dwóch osób stwierdzono kolonizację szczepem hiperepidemicznym.

Po zakończeniu hospitalizacji kontaktowano się z osobami, u których stwierdzono nosicielstwo *C. difficile*. Według relacji tych osób u nikogo nie występowały objawy mogące świadczyć o zakażeniu. Jak również nie obserwowano takich objawów u członków ich rodzin.

Zbadano łącznie 40 pracowników opieki zdrowotnej, z czego 16 osób (40%) stanowili lekarze i 24 osoby (60%) pielęgniarki. Wszyscy byli pracownikami oddziałów, z których kwalifikowano pacjentów do pierwszej części badania. U nikogo nie stwierdzono kolonizacji przewodu pokarmowego *C. difficile*.

Na podstawie przeprowadzonej pracy sformułowano poniższe wnioski:

1. Podstawowym czynnikiem ryzyka nabycia nosicielstwa *C. difficile* w okresie przed przejściem do szpitala jest przyjmowanie antybiotyków oraz glikokortykosteroidów.
2. Metronidazol i karbapenemy zwiększają ryzyko kolonizacji.
3. Probiotyki mogą zwiększać ryzyko nosicielstwa.
4. Przewlekłe choroby układu oddechowego oraz zespół zależności alkoholowej predysponują do wystąpienia kolonizacji.
5. U nosicieli oraz ich rodzin nie stwierdzono zwiększonego ryzyka rozwoju zakażenia *C. difficile*.
6. Personel medyczny (lekarze oraz pielęgniarki) nie należą do grupy podwyższonego ryzyka nabywania nosicielstwa *C. difficile*.

M. Rydzew

Jacyna