

Agnieszka Bednarska^{1,2}, Iwona Sosińska-Bryła², Małgorzata Hackiewicz², Dominik Bursa^{1,2},
Michał Makowiecki^{1,2}, Dawid Porowski^{1,2}, Andrzej Horban^{1,2}

RISK FACTORS FOR COMPLICATED COURSE AND RECURRENCE OF *CLOSTRIDIODES DIFFICILE* INFECTION DURING COVID-19 PANDEMIC

CZYNNIKI RYZYKA POWIKŁANEGO PRZEBIEGU ORAZ NAWROTU ZAKAŻENIA *CLOSTRIDIODES DIFFICILE* W CZASIE PANDEMII COVID-19

¹Warsaw University of Medicine

Warszawski Uniwersytet Medyczny

²Regional Hospital for Infectious Diseases in Warsaw

Wojewódzki Szpital Zakaźny w Warszawie

ABSTRACT

INTRODUCTION. The primary symptom of *Clostridioides difficile* infection (CDI) is diarrhea of varying severity. Both malnutrition and clinical nutrition increase the risk for contracting *Clostridioides difficile* (*C. difficile*) infection and the likelihood of relapses. Moreover, the risk for recurrence is higher if there is infection with a hypervirulent strain (NAP1/BI/027). Hypoalbuminemia predisposes to a severe course of the disease and morbidity.

MATERIAL AND METHODS. Analysis was carried out of the data regarding patients hospitalized at the Regional Hospital for Infectious Diseases in Warsaw from 01 January 2020 to 31 December 2021 who were diagnosed with *C. difficile* infection. A severe course of infection was diagnosed when a blood test showed a leukocyte count greater than or equal to 15,000/μl and/or a creatinine concentration >1.5 mg/dl (>132.6 mmol/l).

RESULTS. *Clostridioides difficile* infection was the reason for 185 hospitalizations (involving 108 women and 77 men), of 167 patients aged from 22 to 93 years old. There were 68 (37%) cases of recurrent infection. Seventy-five (41%) infections met the study's criteria for severe CDI, and 12 (7%) patients died. Out of the total number of hospitalizations, 41 (22%) were due SARS-CoV-2 co-infection. PCR tests detecting binary toxin revealed 34 (18%) positive results. Infection with a hypervirulent strain was an independent risk factor for the recurrence of diarrhea which had *C. difficile* etiology. Overall, during an episode of diarrhea, one antibacterial drug was used in 139 cases (75%), two in 27 (15%), three in 14 (8%) situations, and four – twice (1%). Among these, drugs not recommended for the treatment of CDI were used in 21 (11%) cases. The number of antibacterial drugs administered during an episode of diarrhea was an independent risk factor for the death of the infected person. Clinical nutrition was applied during 19 hospitalizations (10%), out of which 12 (63%) cases showed a severe course of *C. difficile* infection, while four patients (21%) died. Using clinical nutrition methods was an independent risk factor for a severe course of the disease and patient death.

CONCLUSIONS. Clinical nutrition and the number of antibiotics used during an episode of diarrhea are independent risk factors for the death of a patient with CDI. Infection with a hypervirulent strain increases the risk for relapse.

Key words: *Clostridioides difficile*, nutrition, hypervirulent strain, COVID-19

STRESZCZENIE

WSTĘP. Podstawowym objawem zakażenia *Clostridioides difficile* (CDI) jest biegunka o różnym nasileniu. Niedożywienie, ale również samo żywienie dietą przemysłową, zwiększa ryzyko nabycia zakażenia *Clostridioides difficile* (*C. difficile*) oraz prawdopodobieństwo jego nawrotu. Ryzyko nawrotu jest większe również w przypadku zakażenia szczepem hiperwirulentnym (NAP1/BI/027). Hipoalbuminemia predysponuje do ciężkiego przebiegu choroby i zgonu.

MATERIAŁ I METODY. Analizie poddano dane pacjentów hospitalizowanych w Wojewódzkim Szpitalu Zakaźnym w Warszawie w dniach 01.01.2020 do 31.12.2021, u których rozpoznano zakażenie *C. difficile*. Ciężki przebieg zakażenia rozpoznawano w przypadku stwierdzenia w badaniu krwi liczby leukocytów równej lub większej od 15 000/ul i/lub stężenia kreatyniny >1.5 mg/dl (>132.6 mmol/l).

WYNIKI. Zakażenie *Clostridioides difficile* było powodem 185 hospitalizacji (108 hospitalizacji kobiet i 77 mężczyzn), 167 pacjentów w wieku od 22 do 93 lat. W 68 (37%) przypadkach stwierdzono nawrót infekcji. Siedemdziesiąt pięć (41%) zakażeń spełniło przyjęte w badaniu kryteria ciężkiego przebiegu CDI, 12 (7%) pacjentów zmarło. Czterdzieści jeden (22%) hospitalizacji spowodowanych było współistnieniem zakażenia SARS-CoV-2. Uzyskano 34 (18%) dodatnie wyniki badania metodą PCR wykrywającego toksynę binarną. Zakażenie szczepem hiperwirulentnym było niezależnym czynnikiem ryzyka nawrotu biegunki o etiologii *C. difficile*. Ogółem w czasie epizodu biegunki jeden lek p-bakteryjny stosowano w 139 przypadkach (75%), 2 leki w 27 (15%), trzy w 14 (8%) sytuacjach, 4 leki dwukrotnie (1%). Antybiotyk nierekomendowany do leczenia *Clostridioides difficile* stosowany był w 21 (11%) przypadkach. Liczba stosowanych w trakcie epizodu biegunki leków przeciwbakteryjnych okazała się niezależnym czynnikiem ryzyka zgonu zakażonej osoby. Żywnienie dietą przemysłową aplikowane było w czasie 19 hospitalizacji (10%), w 12 (63%) przypadkach stwierdzono ciężki przebieg zakażenia *C. difficile*, cztery osoby (21%) zmarły. Żywnienie dietą przemysłową było niezależnym czynnikiem ryzyka ciężkiego przebiegu i zgonu pacjenta.

WNIOSKI. Żywnienie dietą przemysłową oraz liczba stosowanych w czasie epizodu biegunki antybiotyków są niezależnymi czynnikami zgonu pacjenta z CDI. Zakażenie szczepem hiperwirulentnym zwiększa ryzyko nawrotu.

Słowa kluczowe: *Clostridioides difficile*, żywienie, szczep hiperwirulentny, COVID-19

INTRODUCTION

The primary symptom of *Clostridioides difficile* infection (CDI) is diarrhea ranging in severity from a mild form to fulminant colitis and/or death. The etiologic agents are toxins A and B produced by this anaerobic Gram-positive bacillus (1).

A huge clinical challenge is posed by the relapse of *Clostridioides difficile* (*C. difficile*) infection. The risk of recurrence increases with each successive episode of the disease (2), but is also associated with previous hospitalization, the use of proton pump inhibitors, clinical nutrition, steroid therapy, old age, the use of non-*C. difficile* spectrum antibiotic therapy during CDI, and infection with a hypervirulent strain (3, 4).

At the end of 2019, rapidly spreading infections with a new coronavirus, subsequently named the second Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus (SARS-CoV-2), were detected in China. Eventually, Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) was recognized by the World Health Organization as a public health emergency of international concern (5, 6).

It was reported that more than 70% of patients received at least one antibacterial drug, including broad-spectrum formulations, in addition to treatment for the new coronavirus infection. Alongside with the increase in the number of COVID-19 patients, a rise in nosocomial infections was observed. Bloodstream infections caused by a catheter inserted into a large venous vessel (known as a central venous catheter) rose by 60%, the number of positive cultures of methicillin-resistant *Staphylococcus* (MRSA) increased by 43%, while urinary tract infections associated with urinary

WSTĘP

Podstawowym objawem zakażenia *Clostridioides difficile* (CDI) jest biegunka o różnym nasileniu – od postaci łagodnej do piorunującego zapalenia okrężnicy i/lub śmierci. Czynnikiem etiologicznym są toksyny A i B wytwarzane przez tę beztlenową Gram-dodatnią laseczkę (1).

Ogromnym wyzwaniem klinicznym są nawroty zakażenia *Clostridioides difficile* (*C. difficile*). Ryzyko nawrotu wzrasta z każdym kolejnym epizodem choroby (2), ale związane jest również z wcześniejszą hospitalizacją, stosowaniem inhibitorów pompy protonowej, żywieniem dietą przemysłową, sterydoterapią, podeszłym wiekiem, stosowaniem w czasie trwania CDI antybiotykoterapii nie zawierającej w swoim spektrum *C. difficile* oraz zakażeniem szczepem hiperwirulentnym (3, 4).

Pod koniec 2019 r. wykryto w Chinach szybko rozprzestrzeniające się zakażenia nowym koronawirusem, nazwanym następnie drugim koronawirusem ciężkiego ostrego zespołu niewydolności oddechowej (SARS-CoV-2). Ostatecznie choroba koronawirusowa 2019 (COVID-19) została uznana przez Światową Organizację Zdrowia za stan zagrożenia zdrowia publicznego o zasięgu międzynarodowym (5, 6).

Odnotowano, że ponad 70% pacjentów poza leczeniem zakażenia nowym koronawirusem otrzymywało przynajmniej jeden lek p-bakteryjny, w tym preparaty o szerokim spektrum działania. Razem z narastaniem liczby chorych na COVID-19 obserwowano wzrost liczby zakażeń szpitalnych. Zakażenia krwi, których źródłem był cewnik wprowadzony do duże-

catheterization by 44%. The coexistence of bacterial infections adversely affected the course of COVID-19, prolonging the duration of hospitalization by an average of 13 days and increasing the risk for deterioration of the patient's general condition, which resulted in an almost twofold rise in admissions to the intensive care unit (7-9).

On the other hand, studies to date indicate that SARS-CoV-2 infection has had a reduced or no effect on the incidence of CDI compared to before the COVID-19 pandemic (10). The incidence rate was 1.4 to 4.4 cases per 10,000 patient days. Overall, only about 1% of COVID-19 patients developed diarrhea of *C. difficile* etiology (11).

AIM OF THE STUDY

In our study, we attempted to analyze the impact of the following factors on the risk for CDI complications in the form of a severe course of the disease, of death or a relapse: the patient's age, the results of basic laboratory tests, the use of clinical nutrition, diagnosing infection with a hypervirulent strain of *C. difficile* (NAP1/BI/027), the number of antibiotics used during the course of diarrhea, and concurrent SARS-CoV-2 infection.

MATERIAL AND METHODS

Study population. Analysis was conducted examining the data of 167 patients hospitalized at the Regional Hospital for Infectious Diseases in Warsaw, from 1st January 2020 to 31st December, 2021.

Case definition. The study included patients who were diagnosed with *C. difficile* infection based on the presence of both diarrhea and the toxins of this pathogen in the stool using either the rapid enzyme test from Techlab or the PCR test from GenXpert detecting the gene responsible for the production of BT binary toxin.

Severe infection was diagnosed when a blood test showed a leukocyte count greater than or equal to 15,000/ μ l and/or a creatinine level >1.5 mg/dl (>132.6 mmol/l) (11).

Recurrence of *C. difficile* infection was diagnosed when the following conditions were met: re-hospitalization due to diarrhea, confirmation of *C. difficile* toxin in the diarrheal stools of a person who had completed the treatment of a previous CDI episode.

Data acquisition. First, the following information was extracted from Comarch's Optimed NXT system: basic demographic data (age, gender), as well as the results of additional tests (blood count, CRP, creatinine, albumin levels) performed on the

go naczynia żylnego (tzw. cewnik centralny) dotknęły o 60% więcej osób, liczba dodatnich hodowli gronkowca opornego na metycylinę (MRSA) zwiększyła się o 43%, zakażeń układu moczowego związanego z cewnikowaniem dróg moczowych o 44%. Współistnienie zakażeń bakteryjnych wpływało niekorzystnie na przebieg COVID-19 wydłużając czas hospitalizacji średnio o 13 dni i zwiększając bez mała dwukrotnie ryzyko pogorszenia stanu ogólnego chorego skutkującego przyjęciem do oddziału intensywnej terapii (7-9).

Natomiast dotychczasowe badania wskazują na redukcję lub brak wpływu infekcji SARS-CoV-2 na częstość występowania CDI w porównaniu do okresu sprzed pandemii COVID-19 (10). Wskaźnik zachorowalności wyniósł 1,4 do 4,4 przypadków na 10 000 osobodni. Ogółem, tylko około 1% pacjentów z COVID-19 rozwinęło biegunkę o etiologii *C. difficile* (11).

CEL PRACY

W naszym badaniu podjęliśmy próbę analizy wpływu wieku pacjenta, wyników podstawowych badań laboratoryjnych, stosowania żywienia dietą przemysłową, stwierdzenia zakażenia szczepem hipervirulentnym *C. difficile* (NAP1/BI/027), liczby stosowanych w czasie trwania biegunki antybiotyków oraz współistniejącego zakażenia SARS-CoV-2 na ryzyko wystąpienia powikłań CDI pod postacią ciężkiego przebiegu, zgonu lub nawrotu.

MATERIAŁ I METODY

Badana populacja. Analizie poddano dane 167 pacjentów hospitalizowanych w Wojewódzkim Szpitalu Zakaźnym w Warszawie, w dniach 01.01.2020 do 31.12.2021.

Definicja przypadku. Do badania włączono osoby, u których rozpoznano zakażenie *C. difficile* na podstawie występowania biegunki i stwierdzenia w kale obecności toksyn tego patogenu szybkim testem enzymatycznym firmy Techlab lub genu odpowiedzialnego za produkcję toksyn binarnej BT badaniem PCR firmy GenXpert.

Ciężki przebieg zakażenia rozpoznawano w przypadku stwierdzenia w badaniach krwi liczby leukocytów równej lub większej od 15 000/ μ l i/lub stężenia kreatyniny >1.5 mg/dl (>132.6 mmol/l) (11).

Nawrót zakażenia *C. difficile* stwierdzano po spełnieniu warunków: ponowna hospitalizacja spowodowana biegunką, potwierdzenie obecności toksyn *C. difficile* w biegunkowym kale u osoby, która zakończyła leczenie poprzedniego epizodu CDI.

Pozyskanie danych. W pierwszej kolejności z systemu Optimed NXT firmy Comarch pozyskano podstawowe dane demograficzne (wiek, płeć) oraz wyniki

day of the CDI diagnosis (+/- 3 days), regarding both the primary episode and the recurrence. Next, the Optimed system was browsed for data on the course of *C. difficile* infection (recurrence, severe course, death), the treatment used (the number of antibiotics administered, clinical nutrition applied).

Statistical calculations. Statistical calculations were performed both for the entire study group and for the groups of patients with severe CDI, recurrent infection and those who died. The distribution of qualitative variables was analyzed using the chi-square test. For quantitative variables, the Mann-Whitney U-test was used to compare groups. Logistic regression analysis identified variables associated with an increased likelihood of severe CDI, of recurrence, or of death. Multivariate logistic regression analysis was used to identify independent predictors of severe CDI, recurrent infection and mortality.

Consent of the Bioethics Committee. The Bioethics Committee at Warsaw Medical University has acknowledged information on the study (document number: AKBE/123/2021).

RESULTS

Clostridioides difficile infection was the cause of 185 hospitalizations (a total of 185 admissions: 108 of women and 77 of men) involving 167 patients aged from 22 to 93 years (mean 68 years, median 70 years). There were 68 (out of 185, i.e., 37%) cases of recurrent infection. Seventy-five (41%) infections met the study's criteria for severe CDI, and 12 (out of 167, i.e., 7%) patients died.

Forty-one (22%) hospitalizations were due to SARS-CoV-2 and *C. difficile* co-infection. A severe course of COVID-19 was diagnosed in 35 patients (respiratory failure patients with radiologically confirmed involvement of the inflammatory process in the lungs).

Clinical nutrition (using both the intravenous method from Fesenius Kabi and the enteral one from Nutricia) was applied in 19 cases (10%). Out of this number, 12 (63%) had severe CDI; four patients (21%) died.

There were 34 (18%) positive results of a PCR test used to detect the gene responsible for the production of binary toxin, indicating a 20-fold (59%) recurrence of infection.

Leukocyte counts greater than 15,000/ μ l were found in 62 studies, creatinine levels >1.5 mg/dl (>132.6 mmol/l) in 29, CRP levels above normal (>10 mg/l) in 155, while low albumin levels (<35 g/l) were found in 80 patients.

In 148 (80%) cases, oral monotherapy for diarrhea was used. In 147 episodes with vancomycin,

badań dodatkowych (morfologia krwi, stężenie CRP, kreatyniny, albumin) wykonanych w dniu (+/- 3 dni) rozpoznania CDI, zarówno epizodu pierwotnego jak i nawrotu. Następnie system Optimed był przeglądany w poszukiwaniu danych dotyczących przebiegu zakażenia *C. difficile* (nawroty, ciężki przebieg, zgon), stosowanego leczenia (liczby stosowanych antybiotyków, żywienia dietą przemysłową).

Obliczenia statystyczne. Obliczenia statystyczne przeprowadzono dla całej badanej grupy i dla grup pacjentów z ciężkim przebiegiem CDI, nawrotem zakażenia i zgonem.

Rozkład zmiennych jakościowych analizowano testem chi-kwadrat. Dla zmiennych ilościowych do porównania grup zastosowano test u Manna-Whitney'a. W analizie regresji logistycznej zidentyfikowano zmienne związane ze zwiększonym prawdopodobieństwem ciężkiego przebiegu CDI, nawrotu i zgonu. W celu określenia niezależnych predyktorów ciężkiego przebiegu choroby, nawrotu zakażenia i zgonu, zastosowano wieloczynnikową analizę regresji logistycznej.

Zgoda komisji bioetycznej. Komisja Bioetyczna przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym przyjęła do wiadomości informację o badaniu (nr dokumentu: AKBE/123/2021).

WYNIKI

Zakażenie *Clostridioides difficile* było powodem 185 hospitalizacji (łącznie 185 przyjęć, w tym 108 hospitalizacji kobiet i 77 mężczyzn), 167 pacjentów w wieku od 22 do 93 lat (średnia 68 lat, mediana 70 lat). W 68 (spośród 185; 37%) przypadkach stwierdzono nawrót infekcji. Siedemdziesiąt pięć (41%) zakażeń spełniło przyjęte w badaniu kryteria ciężkiego przebiegu CDI, 12 (spośród 167; 7%) pacjentów zmarło.

Czterdzieści jeden (22%) hospitalizacji spowodowanych było współistnieniem zakażenia SARS-CoV-2 i *C. difficile*. Ciężki przebieg COVID-19 rozpoznano u 35 pacjentów (pacjenci niewydolni oddechow, z potwierdzonym radiologicznie zajęciem przez proces zapalny płuc). Żywienie dietą przemysłową (zarówno dietą dożylną firmy Fesenius Kabi jak i dojelitową firmy Nutricia) stosowane było w 19 przypadkach (10%), w 12 (63%) spośród nich stwierdzono ciężki przebieg CDI, cztery osoby (21%) zmarły.

Uzyskano 34 (18%) dodatnie wyniki badania metodą PCR służącego do wykrywania genu odpowiedzialnego za produkcję toksyn binarnej, 20-to krotnie (59%) był to nawrót zakażenia.

Liczbę leukocytów większą od 15 000/uł stwierdzono w 62 badaniach, stężenia kreatyniny >1.5 mg/dl ($>132,6$ mmol/l) w 29, stężenie CRP powyżej normy

one person (with a mild course of CDI) received metronidazole, as suggested in the recommendations binding in 2020 (12). In cases when patients suffered a severe course of infection, they were treated with oral vancomycin and intravenous metronidazole (33 therapies, 18%). Due to a severe, worsening general condition, one person received fidaxomicin in addition to vancomycin and metronidazole (0.5%) in order to intensify treatment. Two people recovered without treatment (1%); in one case no data concerning therapy were found (0.5%).

Antibiotic therapy not recommended for *C. difficile* infection was used empirically or targeted either suspected or diagnosed pneumonia, urinary tract infection, or sepsis. This situation affected 25 (13.5%) hospitalizations. Ceftriaxone treatment was used in 14 cases, carbapenem (meropenem or imipenem) in 10 cases, while one patient received amikacin.

Overall, during an episode of diarrhea, one antibacterial drug (both targeting *C. difficile* infection and not containing this pathogen in its spectrum) was used 139 times (75%), two drugs in 27 situations (15%), three drugs in 14 (8%), while four drugs twice (1%).

The results of the analysis of continuous variables with the Mann-Whitney U test (for $p < 0.05$) are presented in Table I.

In univariate regression analysis:

- advanced age ($p = 0.0001$, OR 1.044 with each year of increase in age, 95% CI 1.022-1.067), low serum albumin ($p = 0.0059$, OR 0.913 for an increase from 1 mg/ml, 95% CI 0.856-0.974, elevated CRP concentration ($p < 0.001$, OR 1.010 for an increase of 1 mg/l, 95% CI 1.006-1.014) and creatinine ($p < 0.001$, OR 1.024 for an increase of 1 mg/dl, 95% CI 1.014-1.034), high leukocyte count ($p < 0.001$, OR 1.489 for an increase of 1 G/l, 95% CI 1.331-1.667), clinical nutrition ($p = 0.033$, OR 2.926, 95% CI 1.091-7.85) increased the risk for a severe course of CDI;
- advanced age ($p = 1.0173$, OR 1.068 with each year of increase in age, 95% CI 1.012-1.128), high blood leukocyte count ($p = 0.0037$, OR 1.083 for an increase of 1 G/l, 95% CI 1.026-1.143), high creatinine concentration ($p = 0.0005$, OR 1.008 for an increase of 1 mg/dl, 95% CI 1.004-1.013), the number of antibiotics administered after diagnosing *C. difficile* infection ($p = 0.0037$, OR 2.286 for each additional one, 95% CI 1.146-4.559), clinical diet ($p = 0.0083$, OR 6.122, 95% CI 1.595-23.501) were risk factors for death in a patient with CDI;
- advanced age ($p = 0.0069$, OR 1.028 with each year of increase in age, 95% CI 1.008-1.049), ($p = 0.0316$, OR 2.442, 95% CI 1.082-5.513) were risk factors for a relapse of CDI;

(>10 mg/l) w 155, obniżone stężenie albumin (<35 g/l) w 80.

W 148 (80%) przypadkach stosowano doustną monoterapię biegunki. W 147 epizodach wankomycyną, jedna osoba (z łagodnym przebiegiem CDI) otrzymywała zgodnie z zaleceniami obowiązującymi w 2020 roku metronidazol (12). W przypadku ciężkiego przebiegu zakażenia stosowano wankomycynę doustnie oraz metronidazol dożylnie (33 terapie, 18%). Jedna osoba, z powodu ciężkiego, pogarszającego się stanu ogólnego, w celu intensyfikacji leczenia otrzymywała dodatkowo, do wankomycyny i metronidazolu, fidaksomycynę (0,5%), dwie osoby wyzdrowiały bez leczenia (1%), w jednym przypadków nie znaleziono danych dotyczących terapii (0,5%).

Antybiotykoterapia nierekomendowana do leczenia zakażenia *C. difficile* stosowana była empirycznie lub celowanie z powodu podejrzenia lub rozpoznania zapalenia płuc, zakażenia układu moczowego, posocznicy. Sytuacja ta dotyczyła 25 (13,5%) hospitalizacji, leczenie ceftriaxonem stosowane było w 14, karbapenem (meropenem lub imipenem) w 10 przypadkach, jeden pacjent otrzymał amikacynę.

Ogółem w czasie epizodu biegunki jeden lek p-bakteryjny (zarówno ukierunkowany na zwalczanie zakażenia *C. difficile* i nie zawierający w swoim spektrum tego patogenu) stosowano 139 razy (75%), 2 leki w 27 (15%), trzy w 14 (8%) sytuacjach, 4 leki dwukrotnie (1%).

Wyniki analizy zmiennych ciągłych testem U Manna-Whitneya (dla $p < 0,05$) zostały przedstawione w Tabeli I.

W analizie regresji jednoczynnikowej:

- podeszły wiek ($p = 0,0001$, OR 1,044 przy wzroście wieku o jeden rok, 95% CI 1,022-1,067), zmniejszone stężenie albumin ($p = 0,0059$, OR 0,913 dla wzrostu od 1 mg/ml, 95% CI 0,856-0,974, zwiększone stężenie CRP ($p < 0,001$, OR 1,010 dla wzrostu o 1 mg/l, 95% CI 1,006-1,014) i kreatyniny ($p < 0,001$, OR 1,024 dla wzrostu o 1 mg/dl, 95% CI 1,014-1,034), zwiększona liczba leukocytów ($p < 0,001$, OR 1,489 dla wzrostu o 1 G/l, 95% CI 1,331-1,667), żywienie dietą przemysłową ($p = 0,033$, OR 2,926, 95% CI 1,091-7,85) zwiększały ryzyko ciężkiego przebiegu CDI;
- podeszły wiek ($p = 1,0173$, OR 1,068 przy wzroście wieku o jeden rok, 95% CI 1,012-1,128), zwiększona liczba leukocytów krwi ($p = 0,0037$, OR 1,083 dla wzrostu o 1 G/l, 95% CI 1,026-1,143), zwiększone stężenie kreatyniny ($p = 0,0005$, OR 1,008 dla wzrostu o 1 mg/dl, 95% CI 1,004-1,013), liczba antybiotyków stosowanych po stwierdzeniu zakażenia *C. difficile* ($p = 0,0037$, OR 2,286 na każdy dodatkowy, 95% CI 1,146-4,559), żywienie dietą przemysłową ($p = 0,0083$, OR 6,122, 95% CI 1,595-

Table I. Continuous variable analysis - the Mann-Whitney U test (results for $p < 0.05$). All the calculations were performed for 185 hospitalizations. The additional test results which were analyzed were performed on the day of diagnosing *C. difficile* infection (± 3 days), both for the primary episode and the recurrence*

Tabela I. Analiza zmiennych ciągłych testem U Manna-Whitneya (wyniki dla $p < 0.05$). Wszystkie obliczenia przeprowadzono dla 185 hospitalizacji. Analizowane wyniki badań dodatkowych zostały wykonane w dniu (± 3 dni) rozpoznania zakażenia *C. difficile*, zarówno epizodu pierwotnego jak i nawrotu*

DEATH

	NO		YES		p
	Median	Interquartile range (IQR)	Median	Interquartile range (IQR)	
Age	69.00000	22.50000	82.50000	19.50000	0.012313
Number of antibiotics	1.00000	1.00000	3.00000	1.50000	0.035061
WBC count (thousand/ μ l)	10.25000	9.75000	20.98000	6.20500	0.002757
Albumins (g/l)	31.60000	8.55000	25.93000	3.50000	0.044511
CRP (mg/l)	52.50000	116.50000	123.00000	188.00000	0.02560
Creatinine (μ mol/l)	73.50000	43.00000	135.00000	198.00000	0.005197

RELAPSE

	NO		YES		p
	Median	Interquartile range (IQR)	Median	Interquartile range (IQR)	
Age	68.00000	23.50000	72.50000	20.50000	0.007656
Nutritional assessment scale	1.00000	3.00000	2.00000	2.00000	0.048669

SEVERE COURSE OF *CLOSTRIDIODES DIFFICILE* INFECTION

	NO		YES		p
	Median	Interquartile range (IQR)	Median	Interquartile range (IQR)	
Age	68.00000	21.00000	74.00000	19.00000	0.000234
WBC count (thousand/ μ l)	8.15000	4.31000	19.70000	10.37000	0.000000
Albumins (g/l)	31.95000	8.40000	28.40000	10.40000	0.001506
CRP (mg/l)	31.50000	59.00000	78.00000	167.00000	0.000000
Creatinine (μ mol/l)	67.00000	27.00000	104.00000	112.00000	0.000002

* Variables for which the p-value did not reach statistical significance:

- nutritional assessment score in case of death
- number of antibiotics, number of WBC, albumin concentration, CRP in case of relapse
- number of antibiotics, nutritional assessment score in case of a severe course of CDI

* Zmienne, dla których wartość p nie osiągnęła znamienności statystycznej:

- skala odżywienia w przypadku zgonu
- liczba antybiotyków, liczba krwinek białych stężenie albumin, CRP w przypadku nawrotu
- liczba antybiotyków, skala odżywienia w przypadku ciężkiego przebiegu CDI

- SARS-CoV-2 infection ($p=0.0002$, OR 0.095, 95% CI 0.028-0.321) decreased the risk of a relapse.

In multivariate regression analysis (Tables II, III, IV):

- high WBC count, an elevated concentration of creatinine and clinical nutrition were independent risk factors for a severe course of CDI;
- the number of antibiotics used in the course of a diarrhea episode, an elevated concentration of creatinine and clinical nutrition turned out to be

23,501) były czynnikami ryzyka zgonu pacjenta z CDI;

- podeszły wiek ($p=0,0069$, OR 1,028 przy wzroście wieku o jeden rok, 95% CI 1,008-1,049), oraz zakażeniem szczepem hiperwirulentnym ($p=0,0316$, OR 2,442, 95% CI 1,082-5,513) były czynnikiem ryzyka nawrotu CDI;

- zakażenie SARS-CoV-2 ($p=0,0002$, OR 0,095, 95% CI 0,028-0,321) zmniejszyło ryzyko nawrotu. W analizie regresji wieloczynnikowej (Tabele II, III, IV):

Table II. Risk factors for severe *Clostridioides difficile* infection (multivariate regression analysis).Tabela II. Czynniki ryzyka ciężkiego przebiegu zakażenia *Clostridioides difficile* (regresja wieloczynnikowa).

Risk for a severe course of <i>Clostridioides difficile</i> infection			
	OR	95% CI	p
Clinical nutrition	2.795	1.034-7.555	0.002
Number of leucocytes in serum	1.430	1.233-1.657	0.000
Serum creatinine concentration	1.034	1.012-1.056	0.002

Table III. Risk factors for death in patients with *Clostridioides difficile* infection (multivariate regression analysis).Tabela III. Czynniki ryzyka zgonu pacjentów z zakażeniem *Clostridioides difficile* (regresja wieloczynnikowa).

Risk factors for death in patients with <i>Clostridioides difficile</i> infection			
	OR	95% CI	p
Number of antibiotics administered after diagnosing CDI	5.304	1.745-16.122	0.003
Serum creatinine concentration	1.019	1.007-1.031	0.003
Clinical nutrition	4.546	1.119-18.476	0.034

Table IV. Risk of *Clostridioides difficile* infection recurrence related to SARS-CoV-2 co-infection (multivariate regression analysis).Tabela IV. Ryzyko nawrotu zakażenia *Clostridioides difficile* (regresja wieloczynnikowa).

Risk for relapse (multivariate) for p<0.05			
	OR	95% CI	p
SARS-CoV-2 infection	0.238	0.053-1.070	0.061
NAP1/BI/027 hypervirulent strain	2.612	1.032-6.612	0.043

- independent risk factors of the death of the infected person;
- a positive result of the PCR test was an independent risk factor for a relapse of diarrhea with a *C. difficile* etiology.

DISCUSSION

Many studies indicate an increased risk for acquiring *Clostridioides difficile* infection in malnourished patients, while hypoalbuminemia predisposes to a severe course of the disease: these patients also die more often (13-15). Moreover, an increased incidence of CDI recurrence has been observed in those with elevated scores on the malnutrition risk assessment scale (16, 17). Not only malnutrition, but clinical nutrition itself can increase the number of *C. difficile* infections (18, 19). Absorption of clinical nutrition takes place in the small intestine. Depriving the colon microbiota of nutrients leads to the suppression of its growth and the creation of an environment conducive to the growth of *Clostridioides difficile* and the development of an infection of this etiology (20). In addition, even a small degree of malnutrition can lead

- zwiększona liczba krwinek białych, zwiększone stężenie kreatyniny, żywienie dietą przemysłową było niezależnym czynnikiem ryzyka ciężkiego przebiegu CDI;
- liczba stosowanych w trakcie epizodu biegunki antybiotyków, zwiększone stężenie kreatyniny oraz żywienie dietą przemysłową okazało się niezależnym czynnikiem ryzyka zgonu zakażonej osoby;
- dodatni wynik badania PCR był niezależnym czynnikiem ryzyka nawrotu biegunki o etiologii *C. difficile*.

DYSKUSJA

Wiele badań wskazuje na zwiększone ryzyko nabycia zakażenia *Clostridioides difficile* u osób niedożywionych. Hipoalbuminemia predysponuje do ciężkiego przebiegu choroby, pacjenci ci też częściej umierają (13-15). Również zwiększoną częstość występowania nawrotów omawianej infekcji zaobserwowano u osób z podwyższoną liczbą punktów w skali oceniającej ryzyko niedożywienia (16, 17). Nie tylko niedożywienie, ale samo żywienie dietą przemysłową może zwiększać liczbę zakażeń *C. difficile* (18, 19). Wchłanianie diety

to disorders of both innate and acquired immunity. Nutrient deprivation affects the structure and defense functions of the gastrointestinal mucosa (21).

The analysis of 185 hospitalizations of patients with diarrhea of *Clostridioides difficile* etiology performed in the present study shows that enrolling patients in clinical nutrition is an independent risk factor for severe CDI and death. Statistically lower serum albumin levels were observed in these patients. However, this is not a criterion affecting the decision to start clinical nutrition. The severity of the general condition, reduction in food intake and weight loss are taken into account. Thus, it should be assumed that recommending clinical nutrition was a combination of all these factors, though it was these factors that influenced the risk for an unfavorable course of the disease.

Renal failure predisposes to the occurrence of infection and simultaneously promotes an excessive inflammatory response to infection, thus increasing the patient's risk for death (22). Both acute and end-stage renal failure is recognized as a risk factor for the development of severe *C. difficile* infection eventually leading to death (23, 24). In the case of the study group, patients with elevated serum creatinine levels also died more frequently than those with normal renal function parameters.

Intensification of antibacterial treatment appeared to be an independent risk factor for patient death. In 25 cases (13.5%) out of the group under analysis, in addition to the antibiotics used to treat CDI infection, patients also received drugs from other groups. Carbanems, cephalosporins or aminoglycosides were used as empiric or targeted treatment of concomitant infections.

The use of antibiotics not recommended for the treatment of *Clostridioides difficile* may be associated with a severe and complicated course of diarrhea and treatment failure (25, 26). In the case of our study, it seems reasonable to assume that the use of intravenous metronidazole in addition to oral CDI treatment was *a priori* associated with a severe course of disease. Of the 34 patients receiving oral vancomycin and intravenous metronidazole, 26 (76%) patients met the definition adopted for the severe course of CDI. In contrast, those with an uncomplicated course of infection were treated with vancomycin only or metronidazole only, or in 89% of cases, received no treatment at all. However, it should be noted that some patients also received antibiotic therapy for infections other than CDI, such as bacterial pneumonia, urinary tract infection, or systemic infections. We cannot dismiss the assumption that the coexistence of an infectious disease other than diarrhea with *C. difficile* etiology affected the patient's prognosis.

przemysłowej odbywa się w jelicie cienkim. Pozbawienie mikrobioty jelita grubego składników odżywczych prowadzi do tłumienia jej wzrostu, tworzenia środowiska sprzyjającego wzrostowi *Clostridioides difficile* i rozwoju zakażenia o tej etiologii (20). Dodatkowo, nawet niewielkiego stopnia niedożywienie może prowadzić do zaburzeń odporności zarówno wrodzonej jak i nabytej. Ubytek substancji odżywczych wpływa na strukturę i funkcje obronne błony śluzowej przewodu pokarmowego (21).

Z przeprowadzonej w prezentowanym badaniu analizy 185 hospitalizacji chorych z biegunką o etiologii *Clostridioides difficile* wynika, że zakwalifikowanie pacjenta do żywienia dietą przemysłową jest niezależnym czynnikiem ryzyka ciężkiego przebiegu CDI oraz zgonu. U tych pacjentów obserwowano statystycznie mniejsze stężenie albumin w surowicy. Nie jest to jednak kryterium wpływające na decyzję o rozpoczęciu żywienia przemysłowego. Pod uwagę bierze się ciężkość stanu ogólnego, zmniejszenie ilości przyjmowanego pokarmu i utratę masy ciała. Należy więc przyjąć, że zalecenie stosowania żywienia dietą przemysłową było wypadkową tych wszystkich czynników i to one wpływały na ryzyko niekorzystnego przebiegu choroby.

Niewydolność nerek predysponuje do występowania infekcji, jednocześnie sprzyjając nadmiernej odpowiedzi zapalnej na zakażenie, przez co zwiększa ryzyko zgonu chorego (22). Zarówno ostra jak i schyłkowa jest uznana za czynnik ryzyka rozwoju zakażenia *C. difficile* i śmiertelności w jego przebiegu (23, 24). W przypadku badanej grupy chorych, u których stwierdzono podwyższone stężenie kreatyniny w surowicy również umierali częściej niż osoby z prawidłowymi parametrami wydolności nerek.

Intensyfikacja leczenia p-bakteryjnego okazała się być niezależnym czynnikiem ryzyka zgonu pacjenta. W analizowanej grupie poza antybiotykami stosowanymi w leczeniu zakażenia CDI w 25 przypadkach (13,5%) chorzy otrzymywali również leki z innych grup. Jako leczenie empiryczne lub celowane zakażeń współistniejących stosowano karbanemy, cefalosporyny lub aminoglikozydy.

Stosowanie antybiotyków nierekomendowanych do leczenia *Clostridioides difficile* może być związane z ciężkim i powikłanym przebiegiem biegunki oraz z niepowodzeniem leczenia (25, 26). W przypadku naszego badania wydaje się zasadne założenie, iż stosowanie poza leczeniem doustnym CDI również metronidazolu dożylnie związane było *a priori* z ciężkim przebiegiem choroby. Spośród 34 chorych otrzymujących wankomycynę doustnie oraz metronidazol dożylnie, 26 (76%) pacjentów spełniało przyjętą definicję ciężkiego przebiegu CDI. Natomiast osoby z niepowikłanym przebiegiem zakażenia w 89% przy-

As mentioned, SARS-CoV-2 infection does not affect the number of *C. difficile* infections or reduces them by up to 70% compared to the pre-COVID-19 pandemic. As *Clostridioides difficile* is a bacterium that produces spores remaining on surfaces for long periods of time and is often resistant to alcohol-based hand sanitizers, the increased use of both personal protective equipment during this period and the escalation of training on how to put it on and take it off may have reduced the number of infections. Strict isolation of patients probably had a similar effect (8, 27-29).

Our study did not look at the overall number of *Clostridioides difficile* infections, but at the course of the disease, including risk factors for recurrent diarrhea. While co-infection with SARS-CoV-2 had no effect on the severity of the course or on the mortality of people with *C. difficile*-induced diarrhea, the number of relapses was reduced. However, this effect was only seen in the univariate regression analysis.

On the other hand, infection with BI/NAP1/027, a so-called hypervirulent strain, increases the risk of complicated CDI and death (30). Our study also showed that infection with this strain is associated with an increased risk for recurrent diarrhea (31).

CONCLUSIONS

To sum up, the management strategy for patients infected with *C. difficile* should take into account that clinical nutrition is a risk factor for an unsuccessful course of the disease. Moreover, prudent application of antibiotic policy is necessary, especially limiting the number of antibacterial drugs not recommended for the treatment of CDI after diagnosing the presence of toxins in the diarrheal stool of the patient. People infected with the hypervirulent strain should undergo prolonged medical follow-up due to the increased risk for recurrence.

Declarations:

The authors deny any conflict of interest.

The study was carried out under a grant from the Foundation for the Development of Science at the Regional Hospital for Infectious Diseases, 01-201 Warszawa, 37 Wolska Street.

padków leczone były tylko wankomycyną lub tylko metronidazolem, lub nie były leczone w ogóle.

Należy jednak zauważyć, że część pacjentów otrzymywała również antybiotykoterapię z powodu zakażeń innych niż CDI, takich jak bakteryjne zapalenie płuc, zakażenie układu moczowego, czy zakażeń ogólnoustrojowych. Nie można odrzucić założenia, że współistnienie choroby zakaźnej innej niż biegunka o etiologii *C. difficile* wpłynęło na rokowanie chorego.

Jak wspomniano infekcja SARS-CoV-2 nie wpływa na liczbę zakażeń *C. difficile* lub zmniejsza ich częstotliwość nawet o 70% w stosunku do okresu sprzed pandemii COVID-19. Jako, że *Clostridioides difficile* jest bakterią wytwarzającą pozostające przez dłuższy czas na powierzchniach zarodniki i często odporną na produkowane na bazie alkoholu środki do dezynfekcji rąk, wzmożone w tym okresie zarówno stosowanie środków ochrony osobistej jak i eskalacja liczby szkoleń dotyczących ich zakładania i zdejmowania mogły doprowadzić do ograniczenia liczby zachorowań. Podobny wpływ najprawdopodobniej odegrała ścisła izolacja chorych (8, 27-29).

Nasze badanie nie dotyczyło ogólnej liczby zakażeń *Clostridioides difficile*, ale jego przebiegu – w tym czynników ryzyka nawrotu biegunki. Podczas gdy ko-infekcja z SARS-CoV-2 nie miała wpływu na ciężkość przebiegu i śmiertelność osób z biegunką wywołaną *C. difficile* zmniejszeniu uległa liczba nawrotów choroby. Jednak wpływ ten widoczny był jedynie w analizie regresji jednoczynnikowej. Przeciwnie, zakażenie szczepem BI/NAP1/027, tzw. szczepem hiperwirulentnym zwiększa ryzyko powikłanego przebiegu CDI i zgonu (30). Zakażenie tym szczepem związane jest ze zwiększonym ryzykiem nawrotu biegunki, co wykazało również nasze badanie (31).

WNIOSKI

Sumując, strategia postępowania z chorym zakażony *C. difficile* powinna uwzględniać żywienie dietą przemysłową jako czynnik ryzyka niepomyślnego przebiegu choroby. Niezbędne jest rozważne stosowanie polityki antybiotykowej, w szczególności ograniczenie liczby stosowanych leków p-bakteryjnych nie-rekomendowanych do leczenia CDI po stwierdzeniu obecności toksyn w biegunkowym kale chorego. Osoby zakażone szczepem hiperwirulentnym powinny podlegać wydłużonej obserwacji medycznej ze względu na zwiększone ryzyko nawrotu.

Deklaracje:

Autorzy negują konflikt interesów

Badanie zostało przeprowadzone w ramach grantu Fundacji Rozwoju Nauki w Wojewódzkim Szpitalu Zakaźnym, 01-201 Warszawa, Wolska 37.

REFERENCES

1. Zakażenie *Clostridioides difficile* i rzekomobłoniaste zapalenie jelit. [Internet] Available from: <https://www.mp.pl/interna/chapter/B16.II.4.24.2>.
2. Tsigrelis C. Recurrent *Clostridioides difficile* infection: Recognition, management, prevention. *Cleve Clin J Med* 2020;87(6):347-359.
3. Anjewierden S, Han Z, Brown A, et al. Risk factors for *Clostridioides difficile* colonization among hospitalized adults: A meta-analysis and systematic review. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2021;42(5):565-572.
4. Song JH, Kim YS. Recurrent *Clostridium difficile* Infection: Risk Factors, Treatment, and Prevention. *Gut Liver* 2019;13(1):16-24.
5. Hu B, Guo H, Zhou, et al. Characteristic of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat Rev Microbiol* 2021;19:141-154.
6. Coronavirus disease (COVID-19) pandemic . [Internet] Available from: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>
7. Soltani S, Faramarzi S, Zandi M, et al. Bacterial coinfection among coronavirus disease 2019 patient groups: an updated systematic review and meta-analysis. *New Microbe and New Infect* 2021;43:100910.
8. Baker MA, Sands KE, Huang SS, et al. The Impact of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) on Healthcare-Associated Infections. *Clin Infect Dis* 2022;74:1748-1754
9. Waring S, Gamtkitsulashvili G, Kumar S, et al. Impact of bacterial co-infection with COVID-19 on morbidity and mortality. *Eur Respir J* 2021;58:PA3261
10. Granata G, Petrosillo N, Moghazi SA, et al. The burden of *Clostridioides difficile* infection in COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis. *Anaerobe* 2022;74:102484.
11. McDonald LC, Gerding DN, Johnson S, et al. Clinical Practice Guidelines for *Clostridium difficile* Infection in Adults and Children: 2017 Update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA). *Clin Infect Dis* 2018;66(7):e1.
12. Van Prehn J, Reigadas E, Vogelzang E, et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: 2021 update on the treatment guidance document for *Clostridioides difficile* infection in adults. *Clin Microbiol Infect.* 2021;27:1-21.
13. Khanafer N, Vanhems P, Barbut F, et al. Factors associated with *Clostridium difficile* infection: A nested case-control study in a three year prospective cohort. *Anaerobe* 2017;44:117-123.
14. Czepiel J, Krutova M, Mizrahi A, et al. Mortality Following *Clostridioides difficile* Infection in Europe: A Retrospective Multicenter Case-Control Study. *Antibiotics (Basel)* 2021;10(3):299
15. Cho SM, Lee JJ, Yoon HJ, et al. Clinical risk factors for *Clostridium difficile*-associated diseases. *Braz J Infect Dis* 2012;16(3):256-61.
16. Behar L, Chadwick D, Dunne A, et al. Toxigenic *Clostridium difficile* colonization among hospitalised adults; risk factors and impact on survival. *J Infect* 2017;75(1):20-25.
17. Wang D, Dong D, Wang C, et al. Risk factors and intestinal microbiota: *Clostridioides difficile* infection in patients receiving enteral nutrition at Intensive Care Units. *Crit Care* 2020; 24(1):426.
18. Wang D, Dong D, Wang , et al. Risk factors and intestinal microbiota: *Clostridioides difficile* infection in patients receiving enteral nutrition at Intensive Care Units. *Crit Care* 2020;24(1):426.
19. Anjewierden S, Han Z, Brown AM, et al. Risk factors for *Clostridioides difficile* colonization among hospitalized adults: A meta-analysis and systematic review. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2021;42(5):565-572.
20. O'Keefe SJ. Tube feeding, the microbiota, and *Clostridium difficile* infection. *World J Gastroenterol* 2010;16(2):139-42.
21. Bourke CD, Berkley JA, Prendergast AJ. Immune Dysfunction as a Cause and Consequence of Malnutrition. *Trends Immunol* 2016;37(6):386-398.
22. Kurts Ch, Panzer U, Anders H-J, et al. The immune system and kidney disease: basic concepts and clinical implications. *Nat Rev Immunol* 2013;13(10):738-753
23. Charilaou P, Devani K, John F, et al. Acute kidney injury impact on inpatient mortality in *Clostridium difficile* infection: A national propensity-matched study. *Gastroenterology* 2018;33(6):1227-1233
24. Goyal A, Chatterjee K, Yadlapati S, et al. Impact of end stage kidney disease on costs and outcomes of *Clostridium difficile* infection, *Int J of Infect Dis* 2017;62:8-9.
25. Tay HL, Chow A, Ng TM, et al. Risk factors and treatment outcomes of severe *Clostridioides difficile* infection in Singapore. *Sci Rep* 2019;9:13440.
26. Modena S, Gollamudi S, Friedenber F. Continuation of antibiotics is associated with failure of metronidazole for *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *J Clin Gastroenterol* 2006;40(1):49-54.
27. Voona S, Abdic H, Montgomery R, et al. Impact of COVID-19 pandemic on prevalence of *Clostridioides difficile* infection in a UK tertiary centre. *Anaerobe* 2022;73:102479
28. Granata G, Petrosillo N, Al Moghazi S, et al. The burden of *Clostridioides difficile* infection in COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis. *Anaerobe* 2022;74:102484

29. Khanna S, Kraft C. The interplay of SARS-CoV-2 and *Clostridioides difficile* infection. *Future Microbiol* 2021;16(6):439-443
30. De Roo AC, Regenbogen SE. *Clostridium difficile* Infection: An Epidemiology Update. *Clin Colon Rectal Surg* 2020;33(2):49-57
31. Petrella LA, Sambol SP, Cheknis A, et al. Decreased cure and increased recurrence rates for *Clostridium difficile* infection caused by the epidemic *C. difficile* BI strain. *Clin Infect Dis* 2012;55:351-357

Received: 01.11.2022

Accepted to publication: 21.03.2023

Otrzymano: 01.11.2022 r.

Zaakceptowano do publikacji: 21.03.2023 r.

Address for correspondence:

Adres do korespondencji:

Agnieszka Bednarska

Wojewódzki Szpital Zakaźny

ul. Wolska 37,

01-201 Warszawa

Tel.: 22 3355372

E-mail: abednarska@zakazny.pl