



EPIDEMIOLOGIA *CLOSTRIDIODES DIFFICILE* - ARTICOL DE SINTEZĂ NARATIVĂ

Diana SPĂȚARU, Angela PARASCHIV, Ion BERDEU

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Republica Moldova

Autor corespondent: Diana Spătaru, e-mail: diana.spataru@usmf.md

DOI: 10/38045/ohrm.2021.2.02

CZU: 616.34-022.7:579.852.13]-036.22

Keywords: *Clostridium difficile*, epidemiology of *Clostridium difficile*, *Clostridium difficile* surveillance.

A NARRATIVE SYNTHESIS ON THE EPIDEMIOLOGY OF *CLOSTRIDIODES DIFFICILE*

Introduction. *Clostridium difficile* has been identified as the leading cause of antibiotic therapy-associated diarrhea and colitis, which has evolved from sporadic complications of antimicrobial therapy to severe, sometimes fatal events that have eventually become an endemic life-threatening issue among hospitalized and immunosuppressed patients worldwide.

Material and methods. The analysis of the relevant bibliographic sources retrieved from the PubMed, Google Scholar, and other platforms was carried out. All the articles related to these research objectives were selected, followed by exclusion of articles focused on clinics and diagnosis. The study included 43 content-based relevant articles. This present article reveals the evolving epidemiology of *C. difficile* infection (CDI).

Results. *Clostridium difficile* is a sporulated bacterium responsible for infectious diarrhea and pseudomembranous colitis, showing high morbidity and mortality rates among patients, especially in high-risk groups. *C. difficile* mainly affects hospitalized people over 65 years old, who have been exposed earlier to antibiotics. The risk factors for *C. difficile* in these individuals include depletion of the protective intestinal flora by antibiotics and a low immune response to *C. difficile* due to both the advanced age and medical comorbidities. The major outbreaks commonly occur in health care, as well as in long-term care institutions. However, CDI is not supervised in the Republic of Moldova.

Conclusions. A system for reporting and monitoring of *C. difficile* infection needs to be implemented in order to promptly and efficiently manage hospital outbreaks.

Cuvinte cheie: *Clostridioides difficile*, epidemiologia *Clostridioides difficile*, supravegherea *Clostridioides difficile*.

Introducere. *Clostridioides difficile* este agentul cauzal principal al diareei și al colitei asociate cu antibioticoterapia, care a evoluat de la complicații sporadice ale terapiei antimicrobiene la evenimente severe, uneori letale, care au devenit o amenințare endemică atât pentru sănătatea pacienților spitalizați, cât și a celor imunosupresați la nivel mondial.

Material și metode. A fost analizată sursa bibliografică existentă pe platforma PubMed și Google Scholar. Au fost selectate articole care au tangență cu obiectivele respectivei cercetări, iar după excluderea articolelor concentrate pe clinică și diagnostic, în studiu au fost reflectate 43 de articole relevante temei propuse spre cercetare. În acest articol se tratează problema epidemiologiei în evoluție a infecției cu *C. difficile* (ICD).

Rezultate. *Clostridioides difficile* este o bacterie sporulată, responsabilă de diareea infecțioasă și de colita pseudomembranoasă, cu o morbiditate și o mortalitate înaltă, în special la pacienții din grupul de risc. *C. difficile* afectează în special persoanele cu vârstă de peste 65 de ani, spitalizate, cu expunere recentă la antibiotice. Factorii de risc pentru infecția cu *C. difficile* îi constituie epuizarea florei intestinale protectoare la antibiotice și răspunsul imun diminuat din cauza vârstei și a comorbidităților medicale. De obicei, focarele importante apar în cadrul instituțiilor medico-sanitare, dar și a celor de îngrijire pe termen lung. Dar, e de menționat faptul că, la moment, ICD nu este supravegheată în R. Moldova.

Concluzii. Un sistem de raportare și de supraveghere a infecției cu *C. difficile* este necesar a fi implementat, pentru a putea gestiona prompt și eficient focarele intraspitalicești.

INTRODUCERE

Clostridioides difficile (*C. difficile*) este o bacterie anaerobă sporulată, din grupul de microorganisme Gram-pozitive, care produce toxine, responsabilă de diarea infecțioasă și de colita pseudomembranoasă, cu morbiditate și mortalitate semnificativă (1 - 4). Modul de transmitere a agentului infecțios este fecal-oral, iar agentul patogen este pe larg răspândit în mediul extern (4). Rezervoarele potențiale pentru *C. difficile* sunt purtătorii asimptomatici (3), pacienții infectați, mediul contaminat și tractul intestinal al animalelor (canine, feline, porcine, păsări). Aproximativ 5% dintre adulți și 15-70% dintre sugari sunt colonizați de *C. difficile*, prevalența colonizării fiind mult mai mare la pacienții spitalizați sau la beneficiarii instituțiilor de îngrijire pe termen lung. De la descoperirea sa în anul 1935, până în anii '70 ai secolului trecut, a fost considerat ca un microorganism rar întâlnit, dar care este prezent în microbiota intestinală normală. Însă, odată cu introducerea antibioticelor a crescut și rolul *C. difficile*, în patogeneza maladiilor intestinului gros. Astfel, la sfârșitul secolului al XX-lea, incidența infecției cu *Clostridium difficile* (ICD) a crescut semnificativ. Principalii factori de virulență ai *C. difficile* sunt toxinele clostridiene cu greutate moleculară mare: toxina A (TcdA) și toxina B (TcdB) (4, 5). În prezent, CDI a devenit una dintre cele mai semnificative infecții nosocomiale, care afectează toate departamentele instituțiilor medico-sanitare (5, 6). În ultimele decenii infecția cu *C. difficile* a apărut ca o amenințare pentru sănătatea publică la nivel mondial (7), devenind una dintre cele mai frecvente infecții dobândite în spital (1). Recunoașterea precoce a *C. difficile* este necesară pentru implementarea practicilor adecvate de control al infecției în cadrul instituțiilor medico-sanitare (8). *Ipoteza studiului*: Infecția cu *C. difficile* reprezintă un risc pentru pacienții spitalizați supuși antibioticoterapiei, iar măsurile de supraveghere și control sunt indispensabile.

MATERIAL ȘI METODE

Această cercetare abordează epidemiologia *Clostridium difficile*, pentru studiul dat a fost realizată analiză sistematică a literaturii științifice de pe internet, atât pentru cercetări originale, cât și pentru articole de recenzie, în bazele de date biomedicale, prin intermediul PubMed și Google Scholar, publicate în limba engleză și română. În baza cuvintelor cheie „epidemiology of *Clostridium*

difficile”, „*Clostridium difficile* infection”, „surveillance of *Clostridium difficile*”, „surveillance of nosocomial *Clostridium difficile*” au fost selectate 43 de articole relevante temei de cercetare propuse, publicate într-o pondere de 75% în ultimii 5 ani, exceptând studiile clinice și de diagnostic. În baza datelor din aceste articole au fost formulate concluziile din articolul dat.

REZULTATE

Clostridioides difficile provoacă colita infecțioasă severă, care este o cauză a morbidității și a mortalității ridicate. *C. difficile* este un agent patogen frecvent întâlnit în America de Nord (9) și în Europa, de zeci de ani, dar în ultimii ani fiind semnalată identificarea acesteia și în Asia. Recunoașterea precoce a *C. difficile* este necesară pentru implementarea practicilor adecvate de control al infecției (3).

În pofida faptului că în țările dezvoltate economic se acordă o atenție deosebită *C. difficile*, acesta rămâne un agent patogen echivoc. Tehnologia secvențierii genetice a permis analiza genomului *C. difficile*, oferind acces la informații ce țin de factori precum virulența, evoluția și legătura genetică în cadrul grupurilor *C. difficile* (7).

Există atât tulpini toxigene, cât și netoxigene, dar numai formele toxigene produc boli la om. Principalii factori de virulență ai *C. difficile* sunt toxinele clostridiene, cu greutate moleculară mare: toxina A (TcdA) și toxina B (TcdB) (2, 10, 11, 12). Microorganismul se transmite sub formă de spori, care sunt rezistenți la căldură, acizi și antibiotice. Sporii sunt mai abundenți în unitățile de îngrijire a sănătății, dar se găsesc în cantități mai mici în mediul extern, permițând atât transmiterea nosocomială, cât și transmiterea comunitară. Colonizarea este obstrucționată de proprietățile protective ale microbiotei fecale, factorul de risc major pentru infecția cu *C. difficile* reprezentându-l slăbirea acestei rezistențe, ca rezultat al acțiunii antibioticelor (1).

În 2003, tulpina North American Pulse Field tip 1 (NAP1)/ribotipul 027 reprezenta agentul cauzal al epidemiilor cu *C. difficile* în Canada și Statele Unite. Această tulpină conține o mutație a genei inhibitoare a toxinei *C. difficile* tcdC, ducând la creșterea producției de toxine A și B (10) și producând concomitant toxină binară. Datorită acestor factori de virulență, tulpina 027 a fost asociată cu morbiditate mai mare, rate înalte de re-

curență și prezență în comunitate. Între anii 1998 și 2009, numărul spitalizărilor cu diagnosticul de infecție cu *C. difficile*, din Statele Unite, a crescut de la 25.200 până la 110.600, în perioada 2008-2009 (13). Similar cu ribotipul 027 din America de Nord, ribotipul 078 a crescut în Europa din 2005. Această tulpină se caracterizează printr-o incidență în creștere a dobândirii în comunitate, vârsta mai mică de afectare și lipsa antibioticoterapiei precedente (4, 14).

Incidența anuală a infecției cu *C. difficile* se estimează 453.000 de cazuri în Statele Unite, 172.000 în Europa și de 18.005 în Marea Britanie, în timp ce, mai puține date sunt cunoscute despre prevalența și impactul ICD în China (15).

C. difficile reprezintă o cauză majoră a infecției asociată îngrijirilor medicale, care este frecvent identificată în țările dezvoltate (6). Modificările în schemele terapeutice cu antibiotice sunt responsabile de ratele ridicate ale mortalității asociate cu ICD, prin urmare epidemiologia și severitatea acestei infecții s-au schimbat recent (2, 4).

Pacienții cu cel mai mare risc pentru ICD includ persoanele spitalizate cu vârsta peste 65 de ani, cu expunere recentă la antibiotic (15). Factorii de risc pentru *C. difficile* la acești pacienți sunt epuizarea florei intestinale protectoare de către antibiotice și răspunsul imun diminuat la *C. difficile*, din cauza vârstei și a comorbidităților medicale (10). Alte intervenții ce sunt asociate unui risc înalt de infectare sunt clismele, tuburile nazogastrice, chirurgia gastro-intestinală și medicamentele antiperistaltice (16). Majoritatea focarelor epidemice apar în cadrul spitalului și în instituțiile de îngrijire pe termen lung (1).

Clostridioides difficile este responsabilă pentru 15-25% dintre cazurile de diaree, asociată cu antibiotice și în mare parte pentru toate cazurile de colită pseudomembranoasă, asociată cu antibiotice, ce poate produce focare importante. Astfel, infecția nosocomială cu *C. difficile* este responsabilă de prelungirea duratei spitalizării, cuprinsă între 8 și 21 de zile (16).

Infecțiile dobândite în spital sunt o problemă în creștere. Administrarea de antibiotice perturbă microbiota intestinală naturală, deschizând calea spre creșterea excesivă a bacteriilor gram-pozitive anaerobe, cum ar fi *Clostridioides difficile*, precum și producția de toxine A și B, care pot induce inflamația intestinului și diareea. Diareea asociată cu *C. difficile* variază de la ușoară la

severă și, în unele cazuri, poate necesita intervenție chirurgicală. În cazurile severe, infecția asociată îngrijirilor medicale ICD poate duce la mortalitate. În Statele Unite, aproximativ 500 000 de persoane pe an suferă de ICD, cu un număr estimat de morți de 793 de persoane în 1999, 7483 în 2008 și de 7285 în 2009 (17).

În ultimul deceniu, *C. difficile* a exercitat o presiune tot mai mare asupra sistemului de sănătate, încât rata infecției asociate asistenței medicale variază de la 73% la 80% în Statele Unite, Canada și în Europa (17). Un obiectiv cheie ar trebui să fie reducerea incidenței ICD iar, în acest scop, numeroase analize științifice au evaluat măsurile potențiale de prevenire.

Cazurile de „ICD asociate asistenței medicale” (HA CDI) au debutul simptomelor în ziua a treia sau mai târziu, după internarea în spital, sau în prima zi după transferul într-o unitate de asistență medicală, or apar în decurs de 4 săptămâni de la externarea dintr-o instituție medicală (18).

Tabloul clinic este divers și variază de la statutul de purtător asimptomatic, până la diferite grade de diaree, inclusiv până la cea mai severă colită care pune viața în pericol. Diagnosticul se bazează pe detectarea directă a toxinelor *C. difficile* în fecale. Antibioticele de elecție în tratamentul *C. difficile* sunt vancomicina, fidaxomicina și metronidazolul. O terapie promițătoare este transplantul de fecale, în special pentru infecțiile recurente (3, 5, 12, 19, 20). Ratele ridicate de recurență, apariția ribotipurilor PCR epidemice (RT) și introducerea fidaxomicinei în Europa din anul 2011, necesită supravegherea rezistenței antimicrobiene și a epidemiologiei ICD. Sensibilitatea la fidaxomicină, inclusiv pentru RT027, a fost menținută după introducerea acesteia în terapie (20).

Chiar și după recuperarea după infecția inițială, pacienții rămân expuși riscului de recurență sau reinfecție cu o nouă tulpină de *C. difficile*. Unele studii farmacoepidemiologice au sugerat un risc crescut, asociat cu utilizarea de inhibitori ai pompei de protoni și cu efectul protector al statinelor. Anumite ribotipuri de *C. difficile*, inclusiv BI/NAP1/027, 106 și 018, sunt asociate cu rezistență crescută la antibiotice și potențial de morbiditate și mortalitate mai mare. ICD rămâne o infecție cu morbiditate ridicată, în principal asociată cu asistența medicală (21).

Pacienții se pot contamina cu *C. difficile* prin contact cu suprafețele mediului spitalicesc, instru

mentele comune, mâinile personalului medico-sanitar dar și prin contact cu pacienții aflați în același salon. Din moment ce există o sursă de infecție, *C. difficile* se poate răspândi rapid în mediul spitalului, unde spori pot persista perioade îndelungate de timp, până la luni de zile (16). Prin urmare, o igienă adecvată a mâinilor angajaților din domeniul sănătății, prin spălarea cu apă și săpun (care vor îndepărta spori) dar și izolarea pacienților cu diaree acută, pot limita răspândirea microorganismului în cadrul spitalului. Cele mai multe eforturi, însă, s-au concentrat pe terapiile pacienților pentru prevenirea bolilor simptomatice (19).

Antibioticele cel mai frecvent identificate ca factori declanșatori au fost preparatele antimicrobiene cu spectru larg, care au un mare impact asupra florei intestinale normale, în special cele administrate pe cale orală. Acestea includ peniciline, peniciline asociate cu un inhibitor al β -lactamazei, cefalosporine și clindamicină. O combinație de antibiotice sau durata lungă a terapiei cresc riscul de a dezvolta boala (16, 17).

Pentru a asigura identificarea timpurie a ICD și aplicarea promptă a tratamentului, trebuie aplicate tehnici de diagnostic adecvate. Astfel, cele care au prezentate în detaliu tehnici ale diagnosticului ICD, sunt cele care se concentrează, în principal, pe limitele și provocările diagnosticului molecular (2).

O soluție ar fi vaccinurile noi contra *C. difficile*, bazate pe toxine A și B inactivate, care sunt în curs de dezvoltare și care au demonstrat, în studiile clinice timpurii, că diminuează efectele *C. difficile*, prin îmbunătățirea răspunsului antitoxinei A și B (4, 22, 23, 24).

Un studiu, realizat într-un spital universitar, a descris un focar al unui nou tip de *C. difficile* ST295. Utilizând secvențierea genetică a fost îmbunătățită furnizarea de informație epidemiologică și a ajutat la identificarea și neutralizarea focarului, stabilindu-se că un hotel pentru tineri se afla, probabil, la originea transmiterii în comunitate a *C. difficile* (25), deși anumite cercetări nu susțin ipoteza unei creșteri a incidenței ICD severe, asociată comunității (26).

După impactul masiv al pandemiei Covid-19, se observă un spectru clinic larg de complicații tardive asociate cu COVID-19, inclusiv infecția cu *Clostridium difficile*. Factorii de risc semnificativi, asociați pacienților pentru infecția cu *C. difficile*,

sunt expunerea la antibiotice, vârsta înaintată și spitalizarea. Recomandările terapeutice inițiale din multe țări au inclus administrarea de antibiotice cu spectru larg la toți pacienții cu pneumonie bilaterală, asociată cu SARS-CoV-2. Pacienții dezvoltă complicații grave cu *C. difficile* datorită utilizării antibioticelor cu spectru larg. Apariția simptomelor digestive tardive la pacienții diagnosticați și tratați pentru COVID-19 ar trebui să alerteze clinicienii, cu privire la posibilitatea apariției infecției cu *C. difficile*. Criteriile actualizate pentru colita severă și infecția severă cu *C. difficile* ar trebui luate în considerare, pentru asigurarea unui tratament eficient și timpuriu al complicației (27). Astfel, s-a semnalat dobândirea intraspitalicească a infecției cu *C. difficile*, la pacienții cu Covid-19, în special după administrarea excesivă de antibiotice (28, 29). Un alt studiu, care a analizat 113 pacienți decedați, dintr-o cohortă de 799 pacienți cu COVID-19, arată că acestora le fusese administrată o terapie empirică antibacteriană cu moxifloxacină, cefoperazonă sau azitromicină (28), antibiotice puternic asociate infecției cu *C. difficile* (30).

Din măsurile eficiente destinate reducerii incidenței infecției cu *C. difficile* și infecțiilor încruciate fac parte: diagnosticul precoce și rapid (2), tratament adecvat, punerea în aplicare a precauțiilor enterice pentru pacienții simptomatici, consolidarea spălării mâinilor, dezinfectarea zilnică a mediului și o politică restrictivă privind administrarea antibioticelor. *C. difficile* este o cauză frecventă a diareei infecțioase și, prin urmare, ar trebui investigați sistematic pacienții cu diaree nosocomială (16, 17).

Evident, igiena mâinilor este piatra de temelie a controlului infecțiilor, iar promovarea igienei mâinilor este indispensabilă în prevenirea infecției intraspitalicești cu *C. difficile* (31, 32). Studiile au arătat că, respectarea igienei mâinilor a redus ratele de infectare cu *C. difficile* (33). Cercetări realizate în contextul măsurilor de precauție au dovedit că respectarea utilizării mănușilor a fost de 85,4%, iar respectarea spălării mâinilor după îngrijirea pacienților cu ICD a fost de doar 14,2%, o cauză fiind și accesul scăzut la apa de uz curent (chiuvete), care este asociată cu scăderea conformării de spălare regulată a mâinilor (34).

Epidemiologia bolii asociate cu *C. difficile* se schimbă, iar înțelegerea amplitudinii și a motivelor acestei schimbări este în prezent îngreunată de lipsa metodelor standardizate de supraveghere

de orientare care oferă recomandări, pentru (35). În Uniunea Europeană există un document prevenirea ICD în mediile de îngrijire acută, celor responsabili pentru programele instituționale de prevenire și de control al infecțiilor (36).

Un studiu Closer pe o perioadă de 5 ani (2011-2016) a identificat și a monitorizat susceptibilitatea longitudinală antimicrobiană a izolatelor clinice de *C. difficile*, pentru a stabili o bază de date cuprinzătoare a susceptivității, pentru supravegherea continuă și furnizarea de date cu privire la distribuția geografică a tipurilor de tulpini clinice de *C. difficile* în Europa (20).

Analizele univariate, asupra incidenței ICD în 182 spitale din cinci țări (Franța, Germania, Italia, Spania și Marea Britanie), în spitale primare, spitale mici și spitale care utilizează metode care nu detectează toxina (NO-TOXIN), au identificat cele mai ridicate rate ale ICD în Italia (în medie 11,8/10 000 pacient-pat-zile/spital/lună) (37).

În prezent, în SUA, se recomandă ca unitățile de asistență medicală să efectueze supravegherea activă a ICD, unde multe state sunt obligate să raporteze ratele ICD asociate asistenței medicale (35, 38).

Un studiu a prevalenței de moment a infecțiilor asociate asistenței medicale și consumul antimicrobiene în spitalele din Republica Moldova a constatat că nu se efectuează testarea materiilor fecale pentru determinarea ICD, astfel, lipsesc datele oficiale cu referire la incidența morbidității acestei infecții (8).

După recunoașterea focarelor europene de infecții cu *C. difficile*, asociate cu apariția ribotipului PCR 027/NAP1 în 2005, supravegherea *C. difficile* la nivel de țară a fost încurajată de Centrul European de Prevenire și Control al Bolilor. Este subliniată necesitatea supravegherii naționale și europene pentru a controla *C. difficile*. Cu toate acestea, s-a constatat că țările europene au o capacitate limitată pentru stabilirea diagnosticului, în special în ceea ce privește utilizarea metodelor optime standard și absența protocoalelor de supraveghere (39).

Începând cu anul 2011, 14 țări europene au implementat supravegherea națională a *C. difficile*, după diverse metodologii (40). Cu toate acestea, *C. difficile* rămâne a fi o boală, în general, slab controlată în Europa. În 2017, 20 de țări europene aveau un sistem național de supraveghere a *C.*

difficile, iar 21 de țări au participat la supravegherea coordonată de ECDC a ICD. Din 2014, numărul centrelor cu capacitate de identificare a *C. difficile* a crescut până la 35 de laboratoare centrale sau de referință, în 26 de țări europene (18).

DISCUȚII

Infecția cu *Clostridium difficile* este o boală importantă asociată asistenței medicale la nivel mondial, care apare în special după terapia antimicrobiană (17, 19, 20, 30, 38, 41). Antibioticele, administrate pentru a trata o serie de infecții, pot favoriza colonizarea cu *C. difficile* a tractului gastro-intestinal și, prin urmare, și apariția ICD. O creștere a izolatelor clinice multirezistente și susceptibilitatea redusă a acestora la antibioticele cel mai frecvent utilizate, au făcut ca tratamentul infecției cu *C. difficile* să fie mult mai complex, permițând persistența acestui microorganism în mediul intestinal (6).

Mediul spitalicesc și pacienții supuși tratamentului cu antibiotice reprezintă un ecosistem discret, în care persistă *C. difficile* și unde se dezvoltă tulpinile virulente. Creșterea continuă a infecției cu *C. difficile* la nivel mondial a fost însoțită de apariția rapidă și răspândirea transcontinentală a noilor tulpini, extrem de virulente, denumite ribotipurile PCR 017, 027 și 078. Pacienții infectați cu aceste tulpini prezintă adesea diaree severă, episoade recurente și o rată a mortalității mult mai înaltă (42).

Evoluția rapidă a rezistenței la antibiotice și efectele ulterioare asupra prevenirii și tratamentului infecțiilor cu *C. difficile* sunt motive de îngrijorare pentru sănătatea publică în întreaga lume, încât în ultimii ani, *C. difficile* a devenit tot mai greu de tratat (17).

Principalii factori de risc, recunoscuți pe scară largă pentru *C. difficile*, includ vârsta înaintată (≥ 65 de ani), expunerea la antibiotice, durata prelungită a spitalizării, comorbidități precum boala cronică renală, boala inflamatorie intestinală, imunodeficiența și imunosupresia (15, 16, 17), ceea ce impune o vigilență sporită pentru acest grup populațional de pacienți, la care ratele de morbiditate și mortalitate sunt semnificative (3, 4, 14, 43). Însă, e de menționat faptul că, în spitalele din Republica Moldova nu se efectuează teste din materii fecale pentru determinarea infecțiilor cu *C. difficile* (8).

CONCLUZII

1. *C. difficile* este un agent patogen responsabil pentru colita infecțioasă severă, care duce la morbiditate și mortalitate alarmante la nivel mondial.
2. Utilizarea abuzivă a antibioticelor reprezintă un important factor declanșator al infecției cu *C. difficile*, în special peniciline, penicilinele asociate cu un inhibitor al β -lactamazei, cefalosporinele și clindamicina.
3. Recunoașterea promptă a acestui agent patogen va sprijini dezvoltarea practicilor de control al infecțiilor, pentru a contracara propagarea *C. difficile*.
4. Lipsa datelor de supraveghere în Republica Moldova susține necesitatea unei conștientizări clinice și de laborator a acestei infecții, reflecții sporite asupra problemei fiind sugerate atât de literatura de specialitate, cât și de rezultatele supravegherii *C. difficile* în alte țări.

CONFLICT DE INTERESE

Nimic de declarat.

REFERINȚE

1. Leffler DA, Lamont JT. Clostridium difficile Infection. *N Engl J Med*. 2015;372(16):1539-48. Disponibil: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMra1403772> [Accesat 31 ianuarie 2021].
2. Alyousef AA. Clostridium difficile: Epidemiology, Pathogenicity, and an Update on the Limitations of and Challenges in Its Diagnosis. *J AOAC Int*. 2018;101(4):1119-26. Disponibil: <https://academic.oup.com/jaoac/article/101/4/1119-1126/5654010> [Accesat 19 ianuarie 2021].
3. Curry SR. Clostridium difficile. In: Saunders WB. *Clinics in Laboratory Medicine*. Vol. 37, 2017.
4. Burke KE, Lamont JT. Clostridium difficile infection: A worldwide disease. *Gut Liver*. Vol. 8, 2014. Disponibil: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24516694/> [Accesat 31 ianuarie 2021].
5. Czepiel J, Drózd M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, et al. Clostridium difficile infection: review. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. Springer Verlag; 2019. doi:10.1007/s10096-019-03539-6
6. Vuotto C, Donelli G, Buckley A, Chilton C. Clostridium difficile biofilm. In: *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Springer New York LLC; 2018. Disponibil: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-72799-8_7 [Accesat 19 ianuarie 2021].
7. Elliott B, Androga GO, Knight DR, Riley T V. Clostridium difficile infection: Evolution, phylogeny and molecular epidemiology. *Infection, Genetics and Evolution*. Elsevier B.V.; 2017. Disponibil: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28012982/> [Accesat 19 ianuarie 2021].
8. Busuioc E, Caterinciu N, Furtuna N, Rata V, Surdu S. Pilotarea studiului de prevalență de moment a infecțiilor asociate asistenței medicale și consumul antimicrobielenor în spitalele din Republica Moldova. *Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină*. 2019;4(82):299-303.
9. Guh AY, Mu Y, Winston LG, Johnston H, Olson D, Farley MM, et al. Trends in U.S. Burden of Clostridioides difficile Infection and Outcomes. *N Engl J Med*. 2020;382(14):1320-30. doi:10.1056/NEJMoa1910215
10. Pothoulakis C, Lamont JT. Microbes and microbial toxins: Paradigms for microbial-mucosal interactions II. The integrated response of the intestine to Clostridium difficile toxins. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. Disponibil: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11208538/> [Accesat 19 ianuarie 2021].
11. Ooijsaar RE, van Beurden YH, Terveer EM, Goorhuis A, Bauer MP, Keller JJ, et al. Update of treatment algorithms for Clostridium difficile infection. *Clinical Microbiology and Infection*. 2018. doi:10.1016/j.cmi.2017.12.022
12. Smits WK, Lyras D, Lacy DB, Wilcox MH, Kuijper EJ. Clostridium difficile infection. *Nat Rev Dis Prim*. 2016;2(1):1-20. Disponibil: <https://www.nature.com/articles/nrdp201620> [Accesat 5 februarie 2021].
13. Elixhauser A, Steiner C, Gould C. Readmissions following Hospitalizations with Clostridium difficile Infections, 2009: Statistical Brief. *Healthcare Cost and Utilization Project (HCUP) Statistical Briefs*. 2006. Disponibil: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23390660> [Accesat 20 ianuarie 2021].
14. Goorhuis A, Bakker D, Corver J, Debast SB, Harnanus C, Notermans DW, et al. Emergence of Clostridium difficile infection due to a new hypervirulent strain, polymerase chain reaction ribotype 078. *Clin Infect Dis*. 2008;47(9):1162-70. Disponibil: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18808358/> [Accesat 20 ianuarie 2021]. Zhou Y, Mao L, Yu J, Lin Q, Luo Y, Zhu X, et al. Epidemiology of Clostridium difficile infection in hospitalized adults and the first isolation of C. difficile PCR ribotype 027 in central China. *BMC In*

- fect Dis.* 2019;19(1):232. Disponibil: <https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-019-3841-6> [Accesat 26 ianuarie 2021].
15. Barbut F, Petit JC. Epidemiology of Clostridium difficile-associated infections. *Clin Microbiol Infect.* 2001;7(8):405-10.
 16. Goldstein EJC, Johnson S, Maziade P-J, McFarland L V., Trick W, Dresser L, et al. Pathway to Prevention of Nosocomial Clostridium difficile Infection. *Clin Infect Dis.* 2015;60(suppl 2):S148-58. Disponibil: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1093/cid/civ142> [Accesat 31 ianuarie 2021].
 17. Krutova M, Kinross P, Barbut F, Hajdu A, Wilcox MH, Kuijper EJ, et al. How to: Surveillance of Clostridium difficile infections. *Clinical Microbiology and Infection.* Elsevier B.V.; 2018.
 18. Goldenberg JZ, Ma SSY, Saxton JD, Martzen MR, Vandvik PO, Thorlund K, et al. Probiotics for the prevention of Clostridium difficile-associated diarrhea in adults and children. *Cochrane Database of Systematic Reviews.* John Wiley and Sons Ltd; 2013. Disponibil: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23728658/> [Accesat 20 ianuarie 2021].
 19. Freeman J, Vernon J, Pilling S, Morris K, Nicolson S, Shearman S, et al. Five-year Pan-European, longitudinal surveillance of Clostridium difficile ribotype prevalence and antimicrobial resistance: the extended CloSER study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2020;39(1):169-77. doi:10.1007/s10096-019-03708-7
 20. De Roo AC, Regenbogen SE, De Roo AC, Regenbogen SE. Clostridium difficile Infection: An Epidemiology Update. *Clin Colon Rectal Surg.* 2020;33(2):49-57. doi:10.1055/s-0040-1701229
 21. Donald RGK, Flint N, Kalyan N, Johnson E, Witko SE, Kotash C, et al. A novel approach to generate a recombinant toxoid vaccine against Clostridium difficile. *Microbiol (United Kingdom).* 2013; 159(PART7):1254-66. Disponibil: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23629868/> [Accesat 20 ianuarie 2021].
 22. Foglia G, Shah S, Luxemburger C, Pietrobon PJJF. Clostridium difficile: Development of a novel candidate vaccine. *Vaccine.* 2012. Disponibil: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22682287/> [Accesat 20 ianuarie 2021].
 23. Leuzzi R, Spencer J, Buckley A, Brettoni C, Martignelli M, Tulli L, et al. Protective efficacy induced by recombinant clostridium difficile toxin fragments. *Infect Immun.* 2013;81(8):2851-60. Disponibil: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23716610/> [Accesat 20 ianuarie 2021].
 24. Moloney G, Mac Aogáin M, Kelleghan M, O'Connell B, Hurley C, Montague E, et al. Possible Interplay between Hospital and Community Transmission of a Novel Clostridium Difficile Sequence Type 295 Recognized by Next-Generation Sequencing. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2016;37(6):680-4. Disponibil: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27074865/> [Accesat 20 ianuarie 2021].
 25. Viseur N, Lambert ML, Delmée M, van Broeck J, Catry B. Nosocomial and non-nosocomial Clostridium difficile infections hospitalised patients in Belgium - compulsory surveillance data from 2008 to 2010. *Eurosurveillance.* 2011;16(43):20000. Disponibil: <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/ese.16.43.20000-en> [Accesat 31 ianuarie 2021].
 26. Páramo-Zunzunegui J, Ortega-Fernández I, Calvo-Espino P, Diego-Hernández C, Ariza-Ibarra I, Otazu-Canals L, et al. Severe Clostridium difficile colitis as potential late complication associated with COVID-19. *Ann R Coll Surg Engl.* 2020;102(7):E176-9. Disponibil: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32803988/> [Accesat 24 ianuarie 2021].
 27. Yang X, Yu Y, Xu J, Shu H, Xia J, Liu H, et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir Med.* 2020;8(5):475-81. doi:10.1016/S2213-2600(20)30079-5
 28. Sandhu A, Tillotson G, Polistico J, Salimnia H, Cranis M, Moshos J, et al. Clostridiodes difficile in COVID-19 Patients, Detroit, Michigan, USA, March-April 2020. *Emerg Infect Dis.* 2020; 26(9):2272-4. doi:10.3201/eid2609.202126
 29. Brown KA, Khanafer N, Daneman N, Fisman DN. Meta-analysis of antibiotics and the risk of community-associated Clostridium difficile infection. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(5):2326-32. Disponibil: <http://aac.asm.org/> [Accesat 25 ianuarie 2021].
 30. Stella SA, Stace RJ, Knepper BC, Reese SM, Keniston A, Burden M, et al. The effect of eye images and a social norms message on healthcare provider hand hygiene adherence. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2019;40(7):748-54. Disponibil: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31072412/> [Accesat 25 ianuarie 2021].
 31. Zhong X, Wang DL, Xiao LH, Mo LF, Wu QF, Chen YW, et al. Comparison of two electronic hand hygiene monitoring systems in promoting hand hygiene of healthcare workers in the intensive care unit. *BMC Infect Dis.* 2021;21(1). Disponibil: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33430792/> [Accesat 25 ianuarie 2021].
 32. Banks M, Phillips AB. Evaluating the effect of automated hand hygiene technology on compliance and C. difficile rates in a long-term acute care hospital. *Am J Infect Control.* 2020. Disponibil: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33186681/> [Accesat 24 ianuarie 2021].
 33. Deyneko A, Cordeiro F, Berlin L, Ben-David D, Perna S, Longtin Y. Impact of sink location on

- hand hygiene compliance after care of patients with *Clostridium difficile* infection: A cross-sectional study. *BMC Infect Dis.* 2016;16(1). Disponibil: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27184488/> [Accesat 24 ianuarie 2021].
34. McDonald LC, Coignard B, Dubberke E, Song X, Horan T, Kuty PK. Recommendations for Surveillance of *Clostridium difficile* – Associated Disease. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2007;28(2):140-5. Disponibil: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17265394/> [Accesat 25 ianuarie 2021].
 35. Tschudin-Sutter S, Kuijper EJ, Durovic A, Vehreschild MJGT, Barbut F, Eckert C, et al. Guidance document for prevention of *Clostridium difficile* infection in acute healthcare settings. *Clinical Microbiology and Infection.* Elsevier B.V.; 2018. Disponibil: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29505879/> [Accesat 26 ianuarie 2021].
 36. Davies K, Davis G, Barbut F, Eckert C, Petrosillo N, Pisapia R, et al. Factors affecting reported *Clostridioides difficile* infection rates; the more you look the more you find, but should you believe what you see? *Anaerobe.* 2020;62:102178.
 37. Kamboj M, Khosa P, Kaltsas A, Babady NE, Son C, Sepkowitz KA. Relapse Versus Reinfection: Surveillance of *Clostridium difficile* Infection. *Clin Infect Dis.* 2011;53(10):1003-6. Disponibil: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1093/cid/cir643> [Accesat 31 ianuarie 2021].
 38. van Dorp SM, Kinross P, Gastmeier P, Behnke M, Kola A, Delmée M, et al. Standardised surveillance of *Clostridium difficile* infection in European acute care hospitals: a pilot study, 2013. *Eurosurveillance.* 2016;21(29):30293. Disponibil: <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.29.30293> [Accesat 31 ianuarie 2021].
 39. Knetsch CW, Lawley TD, Hensgens MP, Corver J, Wilcox MW, Kuijper EJ. Current application and future perspectives of molecular typing methods to study *clostridium difficile* infections. *Eurosurveillance.* 2013;18(4). Disponibil: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23369393/> [Accesat 31 ianuarie 2021].
 40. Jia H, Du P, Yang H, Zhang Y, Wang J, Zhang W, et al. Nosocomial transmission of *Clostridium difficile* ribotype 027 in a Chinese hospital, 2012-2014, traced by whole genome sequencing. *BMC Genomics.* 2016;17(1).
 41. Dawson LF, Valiente E, Wren BW. *Clostridium difficile*-A continually evolving and problematic pathogen. *Infection, Genetics and Evolution.* Elsevier; 2009. Disponibil: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19539054/> [Accesat 20 ianuarie 2021].
 42. Mejia-Chew C, Dubberke ER. *Clostridium difficile* control measures: current and future methods for prevention. *Expert Review of Anti-Infective Therapy.* Taylor and Francis Ltd; 2018.

Date of receipt of the manuscript: 06/02/2021

Date of acceptance for publication: 15/03/2021

Diana SPĂȚARU, ORCID ID: 0000-0002-9938-3173

Angela PARASCHIV, ORCID ID: 0000-0003-0817-8316

Ion BERDEU, ORCID ID: 0000-0001-7526-7306