

Clostridium difficile: The effect of
antibiotic treatment on growth, spore-
forming potential and toxin amount *in vivo*
and *in vitro*.

Lise Tornvig Erikstrup
Læge, Klinisk Mikrobiologisk Afdeling
Århus Universitetshospital, Skejby

Indhold

- Baggrund
- Udarbejdelse af ph.d-protokol
- Mit projekt
- Infektionshygiejnisk perspektiv

Lyst

En idé

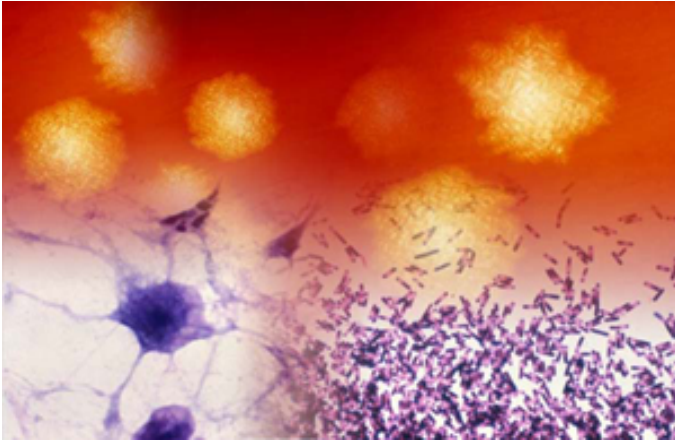


- Ens egen idé
- En andens idé at arbejde videre med
- Et klart projekt

Mit forløb

- En andens idé at arbejde videre med.
- Initiativtagere:
 - Hygiejneansvarlige overlæge, ph.d. Brian Kristensen
 - Uddannelsesansvarlige overlæge, dr. med. Kurt Fuursted.
- Opsøgende
 - undertegnede

Hvad er *Clostridium difficile*



- Anaerob, Gram-positiv stavformet bakterie
- Sporedannelse



Lugter af hest

C. difficile

- Nogle stammer producerer toksiner som menes at forårsage de kliniske symptomer
 - Toksin A (cytotoksin)
 - Toksin B (enterotoksin)
 - Binære toksin
- Smitte
 - Kontaktsmitte, fæko-orale rute
- Reservoir
 - Tarmflora
 - Omgivelser

Forekomst

- *C. difficile* forekommer i normalfloraen hos
 - Børn < 2 år 50 %
 - Raske voksne 3 %
- Hos indlagte patienter stiger hyppigheden af koloniserede til 10 – 25 %
over 60 % heraf vil være asymptomatiske

Forekomst

- 15-25 % af tilfælde med antibiotika udløst diaré skyldes *C. difficile*
- > 90 % af CDI opstår efter eller i forbindelse med antibiotisk behandling
- > 90 % af alle tilfælde med pseudomembranøs colitis skyldes *C. difficile*

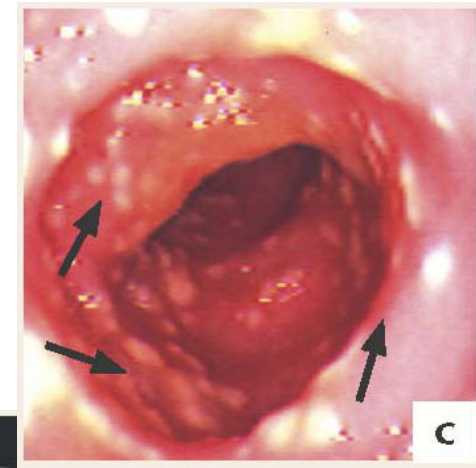
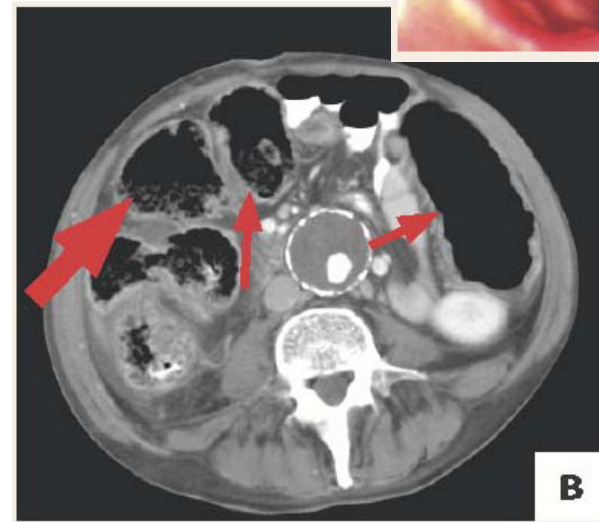
CDI

C. difficile infektion

1. Ændring af tarmens normalflora giver anledning til kolonisering med *C. difficile*
2. Sårbar vært
 - alder > 65 år
 - immunsuppression
3. Erhvervelse af *C. difficile*
 - nosokomial smitte

CDI patogenese

- Udryddelse af normalflora og kolonisering
- Toksiner → cellebeskadigelse
- Inflammation
- Pseudomembraner



Behandling

- Seponer udløsende antibiotiske behandling
- Metronidazol
- Vancomycin
- Kirurgi

C. difficile – et nyt problem?

- Nej, men...
- Incidensen er stigende generelt
 - Flere ældre
 - Øget anvendelse af bredspektret antibiotika
- Introduktion af CD027
- Større individuelle og økonomiske konsekvenser
- Resistensproblematik
- Behov for generelle rekommendationer

Idé

- Karakterisering af klinisk isolater af *C. difficile*
 - type, toksinprofil og resistensmønster
- Evaluere metoder og medier til resistensbestemmelse
- Relatere karakterisering til patientdata
 - alder, køn, antibiotisk behandling, anamnese og geografi.
- *In vitro* og *in vivo* forsøg mhp at vurdere om der er typespecifikke faktorer for kolonisering af tarmen, toksinproduktion og etablering af infektion.

Ph.d. opstart

- 1/2 år
- Lønnet af fondsmidler, herunder stipendium fra Region Midt til ph.d. opstart
- Litteratursøgning
- Protokolskrivning
- Kvalificering

Mit projekt

- Formål: At undersøge effekten af antibiotisk behandling på vækst, sporedannelse og toksinproduktion af *Clostridium difficile*.
- 4 studie
 - Studie 1 er et metodestudie
 - Studie 2 er et in vitro studie
 - Studie 3 og 4 er in vivo studier

Studie 1

- **Formål:** At etablere break-points i henhold til forskellige medier og at anbefale medie og metode at bruge i resistensbestemmelsen af *C. difficile*.
- **Hypotese:** Disk diffusion er en acceptabel metode til resistensbestemmelse af kliniske isolater af *C. difficile* i rutine laboratoriet.
- **Metoder**
 - 120 kliniske isolater og 15 CD027
 - Disk diffusion, E-test og Broth microdilution
 - 10 forskellige antibiotika

Studie 2

- **Formål:** At undersøge effekten af antibiotika på vækst, sporedannelse og toksinproduktion af *C. difficile* *in vitro*.
- **Hypoteser:**
 - Bredspektret antibiotika der ødelægger den anaerobe flora i tarmen vil fremme væksten og toksinproduktionen af *C. difficile* i modsætning til antibiotika, der ikke ødelægger tarmens anaerobe flora.
 - Hastigheden og omfanget af bakteriedrab vil stige og toksinmængden vil falde i en *in vitro* model når *C. difficile* udsættes for en kombination af metronidazol og vancomycin i stedet for metronidazol eller vancomycin alene.

Studie 2

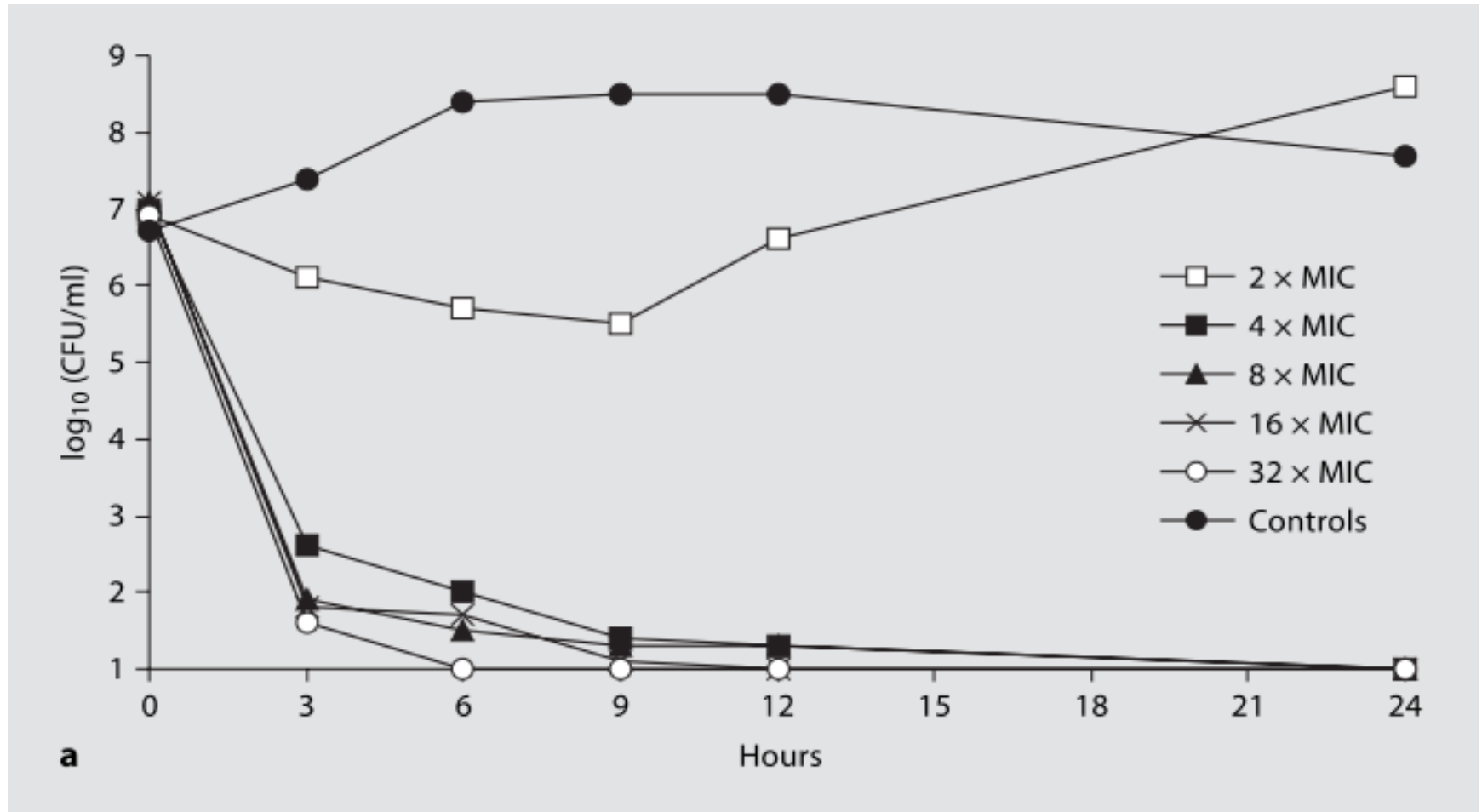
- **Metoder:**

- 6 stammer: 3 kliniske isolater, 2 CD027, 1 referencestamme
- Drabs-tidskurver

- **Antibiotika**

- Vancomycin, metronidazol, meropenem, pip/tazo, ceftriaxon, aztreonam, clindamycin og moxifloxacin

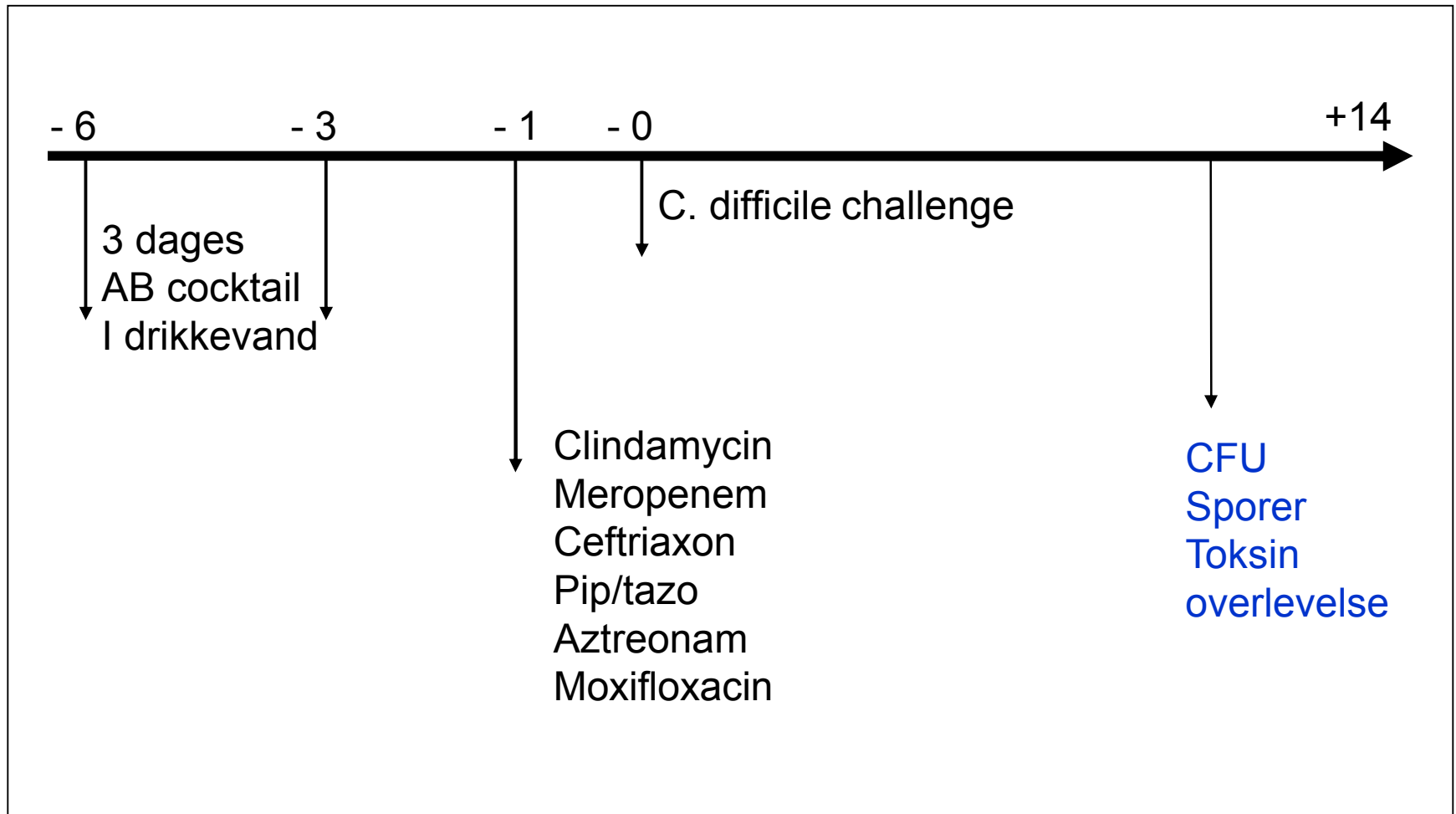
Drabs-tidskurver



Studie 3

- **Formål:** At undersøge antibiotikas evne til at lave *C. difficile* infektion (CDI) i en *in vivo* musemodel
- **Hypoteser:** Bredspektret antibiotika der ødelægger den anaerobe flora i tarmen vil fremme væksten og toksinproduktionen af *C. difficile* i modsætning til antibiotika, der ikke ødelægger tarmens anaerobe flora.
- **Metoder:**
 - 3 stammer: 1 klinisk isolat, 1 CD027 og 1 referencestamme
 - 6 antibiotika: meropenem, pip/tazo, moxifloxacin, ceftriaxon, aztreonam og Clindamycin
 - 12 mus i hver gruppe

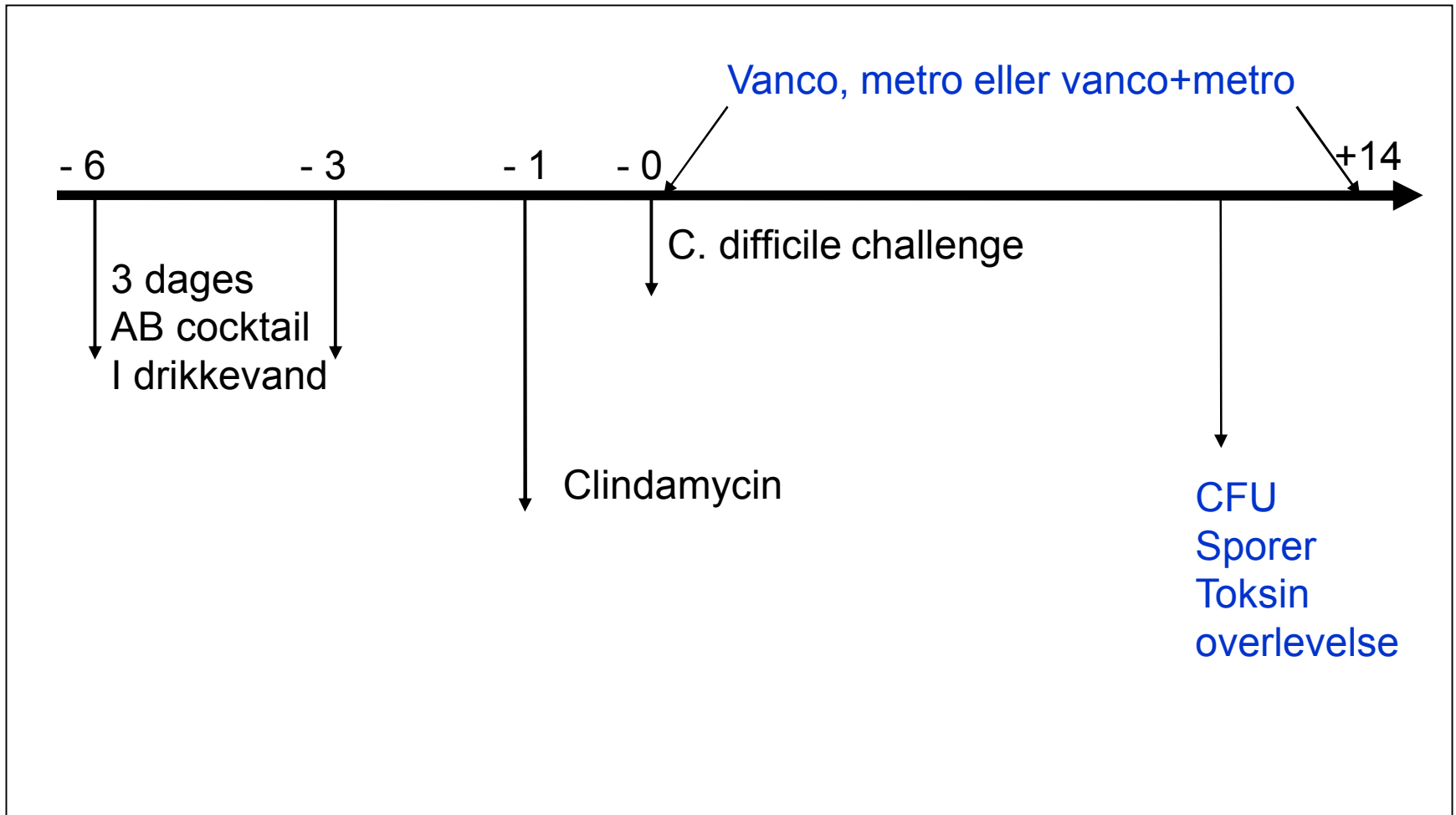
Studie 3



Studie 4

- **Formål:** At undersøge om kombinationsbehandling af CDI er bedre end monoterapi
- **Hypotese:** Hastigheden og omfanget af bakteriedrab vil stige og toksinmængden vil falde i en *in vivo* model når *C. difficile* udsættes for en kombination af metronidazol og vancomycin i stedet for metronidazol eller vancomycin alene.
- **Metoder:**
 - 3 stammer: 1 klinisk isolat, 1 CD027 og 1 refencestamme
 - Antibiotika: Vancomycin og metronidazol
 - 6 mus i hver gruppe

Studie 4



Perspektivering

- At etablere break-points i henhold til forskellige medier og at anbefale medie og metode at bruge i resistensbestemmelsen af *C. difficile*.
- At afgøre om kombinationsbehandling med vanco og metro er bedre end monoterapi → klinisk randomiseret undersøgelse
- Øge vores forståelse af antibiotikas rolle i erhvervelsen og behandlingen af CDI.

Oprindelige Idé

- Karakterisering af klinisk isolater af *C. difficile* Delvist
 - type, toksinprofil og resistensmønster
- Evaluere metoder og medier til resistensbestemmelse Helt
- Relatere karakterisering til patientdata Droppet
 - alder, køn, antibiotisk behandling, anamnese og geografi.
- *In vivo* og *in vitro* forsøg mhp at vurdere om der er Næsten helt typespecifikke faktorer for kolonisering af tarmen, toksinproduktion og etablering af infektion.

Infektionshygiejniske perspektiver

- Mere viden om sporer
- Antibiotika politik
- Bedre overvågning

Konklusion

- Ph.d. er sjovt med et godt projekt!