
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Mecanismul etiopatogenetic și terapia în sindromul de intestin iritabil post-infecțios

Doctorand **Teodora Iacob**

Conducător de doctorat Prof.dr. **Dan Lucian Dumitrașcu**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CUPRINS

ABREVIERI	10
INTRODUCERE	12
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	14
1. Sindromul de intestin iritabil post-infecțios – generalități	16
1.1. Definiție	16
1.2. Epidemiologie	16
1.3. Diagnostic	19
1.3.1. Criteriile ROMA III	19
1.3.2. Scala Bristol a formei scaunului	20
1.3.3. Subtipurile de SII	20
1.3.4. Diagnostic diferențial	21
1.4. Factori de risc	22
2. Sindromul de intestin iritabil post-infecțios – etiopatogeneză	24
2.1. Patogeneză	24
2.1.1. Flora microbiană intestinală	24
2.1.2. Funcțiile florei bacteriene intestinale	25
2.1.3. Interacțiunea gazdă – floră microbiană intestinală	26
2.1.4. Citokine	26
2.1.5. Serotonina	27
2.1.6. Mastocitele	27
2.1.7. Microbiota	27
2.2. Rolul inflamației în SII	29
2.3. Etiologie	30
2.3.1. Diareea călătorului	30
2.3.2. Infecțiile bacteriene	31
2.3.2.1. Infecția cu <i>Campylobacter jejuni</i>	31
2.3.2.2. Infecția cu <i>Shigella spp.</i>	31
2.3.2.3. Infecția cu <i>Salmonella spp.</i>	31
2.3.2.4. Infecția cu <i>Clostridioides difficile</i>	32
2.3.3. Infecțiile parazitare	32
2.3.3.1. Infecția cu <i>Trichinella spp.</i>	32
2.3.3.2. Infecția cu <i>Giardia lamblia</i>	32
2.3.3.3. Infecția cu <i>Blastocystis homini</i>	33
2.3.4. Infecțiile virale	33
3. Sindromul de intestin iritabil post-infecțios – management	33
3.1. Dieta	33

3.2.	Tratament	34
3.2.1.	Opioidele	34
3.2.2.	Antidepresivele triciclice	34
3.2.3.	Antagoniști 5HT3	35
3.2.4.	Agoniști 5HT4	35
3.2.5.	Corticoterapia orală	35
3.2.6.	Colestiramina	36
3.2.7.	Antibiotice	36
3.2.8.	Probiotice	37
3.2.9.	Prebiotice	38
3.2.10.	Sinbiotice	38
3.2.11.	Profilaxie	39
3.3.	Transplantul de materii fecale	40
4.	Sindromul de intestin iritabil post-infecțios – prognostic	40
	CONTRIBUȚIA PERSONALĂ	42
1.	Ipoteza de lucru/obiective	44
2.	Metodologia generală	44
3.	Studiul 1 – Factori de risc ai sindromului de intestin iritabil post-infecțios	46
3.1.	Introducere	46
3.2.	Ipoteza de lucru/obiective	47
3.3.	Material și metodă	48
3.4.	Rezultate	49
3.5.	Discuții	57
3.6.	Concluzii	60
4.	Studiul 2 – Sindromul de intestin iritabil post-infecțios și infecția cu <i>Clostridioides difficile</i>	62
4.1.	Introducere	62
4.2.	Ipoteza de lucru/obiective	64
4.3.	Material și metodă	64
4.4.	Rezultate	65
4.5.	Discuții	71
4.6.	Concluzii	73
5.	Studiul 3 – Incidența sindromului de intestin iritabil în funcție de severitatea infecției cu <i>Clostridioides difficile</i>	74
5.1.	Introducere	74
5.2.	Ipoteza de lucru/obiective	75
5.3.	Material și metodă	75
5.4.	Rezultate	76
5.5.	Discuții	79
5.6.	Concluzii	80
6.	Concluzii generale	82
7.	Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei	84

REFERINȚE	86
ANEXE	96
Chestionar ROMA III (Intestin iritabil)	96
Scala Bristol a formei scaunului	100

Cuvinte cheie: sindrom de intestin iritabil post-infecțios, gastroenterită acută infecțioasă, reacția de polimerizare în lanț, infecție cu *Clostridioides difficile*, chestionar ROMA III, scala Bristol a formei scaunului

INTRODUCERE

SII (SII) rămâne, în continuare, o patologie care pune în dificultate sistemul medical atât din punct de vedere al diagnosticului cât și al managementului pacienților cu această boală. SII este cea mai frecventă tulburare funcțională digestivă întâlnită în practica medicală. SII este considerat a fi o boală cronică, cu evoluție îndelungată, cu episoade de acutizare care uneori afectează calitatea vieții pacienților. Interesul cercetătorilor pentru această tulburare este în continuă creștere. Cu toate acestea, o serie de date legate de etiopatogeneză și tratament sunt incomplet cunoscute. Până în prezent, mecanismele patofiziologice ce stau la baza acestei afecțiuni sunt încă incomplet elucidate, unele dintre ele fiind reprezentate de hipersensibilitatea viscerală, alterarea motilității gastrointestinale, activarea sistemului imun, modificări ale axului creier-intestin și cele mai recente fiind reprezentate de modificarea ale microbiotei intestinale. Deși încă nu s-a putut identifica o cauză certă a intestinului iritabil, implicarea bacteriilor în patogeneza acestei boli ar putea avea o foarte mare importanță.

În cadrul SII există o categorie de pacienți care descriu debutul simptomatologiei de intestin iritabil după un ce au prezentat un episod de gastroenterită acută, sindrom cunoscut sub numele de intestin iritabil post infecțios (SII-PI). La acest subgrup de pacienți modificările produse de infecție au dispărut, în dinamică, dar simptomatologia digestivă persistă.

În lucrarea de față am urmărit câteva aspecte legate de etiopatogeneza și factorii de risc implicați în apariția SII-PI pe loturi de pacienți selecționați din cadrul Spitalului Clinic de Boli Infecțioase, Cluj Napoca. Pacienții selecționați au prezentat episod de gastroenterită acută la care s-a izolat agentul etiologic atât prin examinare directă (examen coproparazitologic – microscopie), examinări bacteriologice (coprocultură) cât și prin examinări imunologice (test rapid *Rotavirus/Adenovirus/Norovirus/Astrovirus*, Antigen *Giardia lamblia*, determinarea toxinelor A și B pentru *Clostridioides difficile*, reacția de polimerizare în lanț pentru *Clostridioides difficile*).

În prima parte a tezei am determinat riscul apariției SII-PI în funcție de etiologia infecțioasă, la 6 luni după episodul de gastroenterită acută. Având în vedere ca datele din literatură descriu o incidență crescută a SII-PI la pacienții de sex feminin, am evaluat, de asemenea, distribuția pe sexe SII-PI. Întrucât în țara noastră există puține date în ceea ce privește SII-PI, în a doua parte a lucrării ne-am propus să analizăm riscul apariției SII după o infecție cu *Clostridioides difficile* (CDI) evidențiată prin reacția de polimerizare în lanț (PCR). Pornind de la ipoteza că severitatea

gastroenteritei infecțioase ar putea fi unul factorii care sunt implicați în modificarea incidenței SII-PI în rândul pacienților, în a treia parte a tezei am urmărit dacă există o corelație între severitatea episodului de gastroenterită și apariția SII-PI la pacienții cu CDI.

Studiul 1. Factori de risc ai sindromului de intestin iritabil post-infecțios

Obiective

Obiectivul acestui studiu a fost de a determina riscul apariției SII-PI în funcție de etiologia infecțioasă la 6 luni după episodul de gastroenterită acută. Am observat distribuția subtipurilor de SII-PI în funcție de agentul etiologic al GEA. De asemenea am evaluat distribuția pe sexe SII-PI.

Material și metodă

Studiul a fost retrospectiv. Culegerea datelor a fost de tip "caz-martor". Variabilele studiate au fost de tip calitativ și cantitativ. Populația studiată a fost formată din pacienți internați în Spitalul Clinic de Boli Infecțioase, Cluj-Napoca, în intervalul 1.01.2013 - 31.12.2015.

Pacienții au fost împărțiți în două grupuri. Grupul caz a fost format din pacienți cu un episod de GEA în care agentul etiologic a fost izolat:

- prin examenul direct al scaunului: microscopie – examen coproparazitologic
- prin examenul bacteriologic – coprocultură pe medii de cultură:
 - o Hektoen enteric (HE) Agar – pentru izolarea *Shigella* și *Salmonella* din probele de scaun
 - o Campy CVA Agar – mediu selectiv pentru izolarea primară a *Campylobacter jejuni* din probele de scaun
 - o CIN (Cefsulodin, Irgasan, Novobiocin) Agar – mediu diferențial selectiv pentru izolarea *Yersinia enterocolitica* din probele de scaun
- prin examinări imunologice
 - o Test rapid *Rotavirus/Adenovirus/Norovirus* (imunologie cromatografică colorată pentru detectarea calitativă simultană a *Rotavirusului*, *Adenovirusului* și *Norovirusului* din probele de scaun);
 - o Test rapid – Antigen *Giardia lamblia* (imunologie cromatografică colorată pentru detectarea calitativă a Giardiei din probele de scaun);
 - o determinarea toxinelor A și B pentru *Clostridioides difficile* (prin reacție imun-enzimatică cu detecție finală de fluorescență) – BioMérieux VIDAS® *C. difficile* tehnica ELFA.

Tipul de identificare a agentului etiologic a fost selectat pe baza examinărilor clinice și a anchetei epidemiologice a pacientului. Grupul de control a fost format din pacienți internați în același serviciu medical pentru o infecție acută de căi respiratorii superioare (IACRS).

Criterii de includere au fost: pacienții cu vârsta peste 18 ani cu un episod de GEA în care poate fi determinat agentul etiologic infecțios sau un episod IACRS.

Criteriile de excludere au fost: pacienți cu vârsta sub 18 ani, pacienții cu GEA în care agentul etiologic infecțios nu a putut fi izolat, pacienți infectați *HIV*, pacienții care au decedat pe parcursul acestui studiu și pacienți diagnosticați anterior cu SII.

Pacienții au completat chestionarul ROMA III pentru diagnosticul SII și au identificat consistența scaunului cu scala SBFS. Chestionarele au fost tipărite pe hârtie și completate direct de către pacienți la 6 luni după episodul infecțios acut în ambele grupuri. Durata medie de răspuns a fost de 5 minute pentru ambele chestionare. Studiul a fost aprobat de comisia locală de etică. Pentru analiza statistică am utilizat programul SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versiunea 24.

Rezultate

Populația țintă a fost formată din 1073 de pacienți. Lotul de pacienți a fost împărțit în două grupuri. Grupul caz a fost format din 873 de pacienți cu un episod de GEA infecțioasă, la care s-a identificat agentul etiologic. Din acest grup, 84 de pacienți (10%) au decedat pe parcursul acestui studiu. Din 789 de pacienți un număr de 45 de pacienți au completat chestionarele (5%) cu vârste cuprinse între 18 și 80 de ani (media 57,36). Pacienți au refuzat să completeze chestionarele au fost în număr de 744. Motivele refuzului de a completa chestionarele din grupul de caz au fost: lipsa de timp, nu doresc să facă parte din studiu și să dezvăluie datele medicale, fără interes pentru domeniul cercetării medicale.

În grupul pacienților cu GEA, 56% au fost diagnosticați cu SII-PI (25 de pacienți) și 44% fără SII-PI (20 de pacienți).

În grupul de control, din 200 de pacienți care s-au prezentat pentru un episod de IACRS, 45 de pacienți au fost selectați potrivit ca vârstă și sex; toți pacienții selectați au completat chestionarele de evaluare. Rata de răspuns în grupul de control a fost de 100%. Dintre cei 45 de pacienți cu IACRS, 13% au fost diagnosticați cu SII (6 pacienți) și 87% au fost fără SII (39 de pacienți).

În ceea ce privește etiologia infecțioasă a GEA, din 8 pacienți cu *Salmonella spp* 5 pacienți au dezvoltat SII-PI. La pacienți cu *Clostridioides difficile*, din 33 de pacienți 17 pacienți au dezvoltat SII. Din 3 pacienți cu infecție cu *Campylobacter jejuni* 2 pacienți au dezvoltat SII-PI. Pacientul cu infecție cu *Rotavirus* a dezvoltat SII-PI. Din punct de vedere al subtipurilor de SII-PI, s-a observat o distribuție în favoarea subtipului mixt, atât la pacienții din grupul caz, cât și din grupul martor. Distribuția subtipurilor SII-PI în funcție de etiologia infecțioasă a GEA a relevat faptul că la pacienții cu infecție cu *Salmonella spp.* o incidență crescută au avut SII-C și SII-M. Pacienții cu CDI au prezentat SII-D și SII-M, similar cu pacienții cu infecție cu *Campylobacter jejuni*. Pacientul cu infecție cu *Rotavirus* a prezentat SII-U. Pacienții cu infecție cu *Campylobacter jejuni* nu au dezvoltat SII-C.

Concluzie

Riscul de a dezvolta SII-PI după un episod de GEA infecțioasă este de 4,16 ori mai mare decât după un episod de IACRS. Sexul feminin este un factor de risc pentru SII-PI, 79% dintre pacienții de sex feminin au dezvoltat SII-PI după GEA. Incidența SII-PI este cea mai mare la pacienții cu un episod de GEA cu *Campylobacter jejuni* comparativ cu ceilalți agenți patogeni.

Studiul 2. Sindromul de intestin iritabil post-infecțios și infecția cu *Clostridioides difficile*

Obiective

Obiectivele acestui studiu au fost de a determina riscul apariției intestinului iritabil post-infecțios în urma unei infecții cu *Clostridioides difficile*.

Material și metodă

Studiul a fost retrospectiv. Culegerea datelor a fost de tip "caz-martor". Variabilele studiate au fost de tip calitativ și cantitativ. Populația studiată a fost formată din 69 de pacienți internați în Spitalul Clinic de Boli Infecțioase, Cluj-Napoca în perioada 1.01.2016 - 31.06.2018. Pacienții au fost internați pentru un episod de GEA, la care s-a suspectat CDI pe baza manifestărilor clinice (diaree apoasă, uneori sanghinolentă sau cu mucus), febră, dureri abdominale, greață, asociate cu ancheta epidemiologică a pacientului (internări anterioare în alte servicii medicale, antibioterapie recentă, tratament cu inhibitori de pompă de protoni sau chimioterapie).

Criteriile de includere au fost pacienții cu vârsta peste 18 ani cu suspiciunea de CDI la care s-a efectuat PCR pentru *Clostridioides difficile* – Cepheid GeneXpert®Dx System.

Criterii de excludere au fost: pacienții sub 18 ani, pacienții fără suspiciune de CDI, pacienții infectați HIV, pacienții care au decedat în timpul acestui studiu.

Pacienții au completat chestionarul ROMA III pentru diagnosticul SII și au identificat consistența scaunului cu scala SBFS. Chestionarele au fost tipărite pe hârtie și completate direct de către pacienți la 6 luni după episodul infecțios acut în ambele grupuri. Durata medie de răspuns a fost de 5 minute pentru ambele chestionare. Studiul a fost aprobat de comisia locală de etică. Pentru analiza statistică am utilizat programul SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versiunea 24.

Rezultate

Pacienții au fost cu vârste cuprinse între 20 și 92 de ani (media 60,72). Pe parcursul acestui studiu au decedat 31 de pacienți dintr-un total de 69 de pacienți. Pacienții decedați pe parcursul acestui studiu au fost cu vârsta > 60 de ani și au avut multiple comorbidități: cardiace, neurologice și/sau maligne. Toți cei 38 de pacienți din populația studiată au completat chestionarele ROMA III și SBFS. Infecția cu *Clostridioides difficile* a fost confirmată la 14 pacienți prin PCR considerat a fi grupul caz, iar infecția a fost exclusă la 24 de pacienți care a fost grupul martor.

În grupul cu CDI, 57% (8 pacienți) au dezvoltat SII-PI la 6 luni după episodul acut, în timp ce 43% (6 pacienți) nu au dezvoltat SII-PI. În lotul martor 25% au dezvoltat SII (6 pacienți) și 75% (18 pacienți) nu au dezvoltat SII. Incidența SII-PI este crescută la pacienții de sex feminin și CDI cu un RR=6,6 (95% CI 1,02 - 43,16) comparativ cu pacienți de sex masculin, rezultate semnificativ statistic ($p=0,03$). La pacienții fără CDI datele obținute n-au fost semnificative statistic ($p=0,87$) astfel încât nu există diferențe ale incidenței SII în funcție de sexul pacienților. Corelând datele obținute în studiul nostru am observat că infecția cu *Clostridioides difficile* e un factor predictiv în incidența SII-PI la pacienții de sex feminin.

Concluzie

În studiul nostru am observat că la 6 luni de la CDI, SII-PI se dezvoltă la 57% pacienți, comparativ cu grupul martor unde CDI a fost exclusă de PCR (43%), rezultate semnificativ statistic ($p=0,04$).

Studiul 3. Incidența sindromului de intestin iritabil în funcție de severitatea infecției cu *Clostridioides difficile*

Obiective

Obiectivul acestui studiu a fost de a evalua dacă există o corelație între debutul SII și severitatea episodului acut de enterită cu *Clostridioides difficile*.

Material și metodă

Studiul a fost retrospectiv. Culegerea datelor a fost de tip "caz-martor". Variabilele studiate au fost de tip calitativ și cantitativ. Populația studiată a fost formată din 69 de pacienți internați în Spitalul Clinic de Boli Infecțioase, Cluj-Napoca în perioada 1.01.2016 - 31.06.2018. Pacienții au fost internați pentru un episod de GEA, la care s-a suspectat CDI pe baza manifestărilor clinice (diaree apoasă, uneori

sanghinolentă sau cu mucus), febră, dureri abdominale, greață, asociate cu ancheta epidemiologică a pacientului (internări anterioare în alte servicii medicale, antibioterapie recentă, tratament cu inhibitori de pompă de protoni sau chimioterapie).

Criteriile de includere au fost pacienții cu vârsta peste 18 ani cu suspiciunea de CDI la care s-a efectuat PCR pentru *Clostridioides difficile* – Cepheid GeneXpert®Dx System.

Criterii de excludere au fost: pacienții sub 18 ani, pacienții fără suspiciune de CDI, pacienții infectați HIV, pacienții care au decedat în timpul acestui studiu. Severitatea enteritei acute cu *Clostridioides difficile* a fost evaluată și stabilită în funcție de necesitatea spitalizării.

Pacienții au completat chestionarul ROMA III pentru diagnosticul SII și au identificat consistența scaunului cu scala SBFS. Chestionarele au fost tipărite pe hârtie și completate direct de către pacienți la 6 luni după episodul infecțios acut în ambele grupuri. Durata medie de răspuns a fost de 5 minute pentru ambele chestionare. Studiul a fost aprobat de comisia locală de etică. Pentru analiza statistică am utilizat programul SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versiunea 24.

Rezultate

Pacienții au fost cu vârste cuprinse între 20 și 92 de ani (media 60,72). Pe parcursul acestui studiu au decedat 31 de pacienți dintr-un total de 69 de pacienți. Pacienții decedați pe parcursul acestui studiu au fost cu vârsta > 60 de ani și au avut multiple comorbidități: cardiace, neurologice și/sau maligne. Din punct de vedere al severității enteritei acute bazată pe necesitatea spitalizării, 53% dintre pacienți nu au fost spitalizați (20 de pacienți) și 47% au fost spitalizați (18 pacienți). Riscul de a dezvolta SII-PI a fost de 2,72 (IC 95% 0,80 - 9,24) ori mai mare comparativ cu grupul de pacienți care nu au necesitat spitalizare pentru CDI, rezultate semnificative statistic ($p=0,004$).

Concluzie

Severitatea CDI a fost un factor de risc pentru dezvoltarea SII-PI, 90% dintre pacienții cu forme severe de CDI au dezvoltat SII-PI.

Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei

SII reprezintă una dintre cele mai frecvente patologii diagnosticate în cabinetele medicale la nivel mondial.

Prezenta teză de doctorat încearcă să clarifice câteva aspecte legate de SII-PI intens dezbătute în ultimele decenii de către experții în domeniu. Diagnosticat pentru

prima dată în urmă cu 60 de ani, continuă să constituie o problemă de sănătate publică, în special prin faptul că etiopatogeneza nu este complet elucidată și, în consecință, nici tratamentul nu este încă standardizat.

Prin subiectul dezvoltat în această teză am urmărit să deschidem noi perspective privind etiopatogeneza SII-PI și factorii de risc .

Caracterul inovator constă în abordarea în aceasta teză, respectiv în Capitolul Stadiul actual al cunoașterii a noțiunilor legate de implicarea patogenetică a agentului etiologic infecțios în dezvoltarea SII-PI, care reprezintă practic cea mai nouă direcție de cercetare actuală în domeniu. De asemenea, și prin revizuirea datelor din literatura în relațiile cu incidența SII-PI și corelarea acesteia cu severitatea bolii infecțioase de inițiale.

Meritul principal al acestei lucrări, pe lângă revizuirea unor elemente de ultimă noutate este investigarea în cadrul capitolului Contribuții Personale a mai multor factori implicații în patogeneza SII-PI.

Plecând de la premisa rolului agentului etiologic infecțios în patogeneza SII-PI am efectuat primul studiu din România care a determinat riscul apariției SII-PI în funcție de etiologia infecțioasă, la 6 luni după un episod de GEA. Rezultatele obținute au fost semnificative statistic. Riscul cel mai mare l-au avut pacienții cu GEA cu *Campylobacter jejuni* comparativ cu celelalte etiologii infecțioase. Dintre pacienții cu SII-PI incidența cea mai mare a fost la pacienții de sex feminin. De asemenea, am evaluat distribuția subtipurilor de SII-PI în funcție de etiologia infecțioasă și am observat o frecvență crescută a subtipului SII-D a în comparație cu populația generală la care SII-C predomină.

A doua parte a lucrării tratează din nou un subiect care nu a mai fost abordat până acum în cercetarea din România. Am analizat riscul apariției SII-PI la 6 luni după o infecție cu *Clostridioides difficile* evidențiată prin PCR. Acest studiu confirmă datele din literatură, incidența SII-PI fiind mai mare la pacienții cu CDI comparativ cu cei la care infecția a fost infirmată. În plus, acest studiu aduce unele completări referitoare la distribuția predominant diareică a subtipului de SII-PI la pacienții care au avut CDI.

Deși există date în literatură am realizat în premieră în România un studiu, care reprezintă ultima parte a acestei teze, despre existența unei corelații între severitatea unui episod acut de CDI evidențiată prin PCR și riscul apariției SII-PI. Din datele obținute am observat că 90% dintre pacienții cu forme severe de CDI au dezvoltat SII-PI la 6 luni după episodul acut.

În concluzie, această teză prezintă atât contribuții inovative cât și un grad înalt de originalitate, parcurgând etape diferite ale cercetării SII-PII, concretizate în cele trei capitole ale cercetării personale. În viitor sperăm să putem continua studiile în acest domeniu, aducând date noi referitoare la patogenia SII-PI, metodele de diagnostic și tratament.

PhD THESIS SUMMARY

The etiopathogenetic mechanism and therapy in post-infectious irritable bowel syndrome

PhD Student **Teodora Iacob**

Scientific coordinator Prof.dr. **Dan Lucian Dumitrașcu**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

TABLE OF CONTENTS

ABBREVIATIONS	10
INTRODUCTION	12
CURRENT STATE OF KNOWLEDGE	
1. Post-infectious irritable bowel syndrome - overview	16
1.1. Definition	16
1.2. Epidemiology	16
1.3. Diagnosis	19
1.3.1. ROMA III criteria	19
1.3.2. Bristole Stool Form Scale	20
1.3.3. Subtypes of IBS	20
1.3.4. Differential diagnosis	21
1.4. Risk Factors	22
2. Post-infectious irritable bowel syndrome - etiopathogenesis	24
2.1. Pathogenesis	24
2.1.1. Intestinal flora	24
2.1.2. Functions of the intestinal flora	25
2.1.3. Host – intestinal flora interaction	26
2.1.4. Citokines	26
2.1.5. Serotonine	27
2.1.6. Mastocytes	27
2.1.7. Microbiota	27
2.2. The inflammation role in IBS	29
2.3. Etiology	30
2.3.1. Traveler’s diarrhea	30
2.3.2. Bacterial infections	31
2.3.2.1. <i>Campylobacter jejuni</i> infection	31
2.3.2.2. <i>Shigella spp.</i> infection	31
2.3.2.3. <i>Salmonella spp.</i> infection	31
2.3.2.4. <i>Clostridioides difficile</i> infection	32
2.3.3. Parasitic infections	32
2.3.3.1. <i>Trichinella spp.</i> infection	32
2.3.3.2. <i>Giardia lamblia</i> infection	32
2.3.3.3. <i>Blastocystis homini</i> infection	33
2.3.4. Viral infections	33
3. Post-infectious irritable bowel syndrome - management	33
3.1. Diet	33
3.2. Treatment	34
3.2.1. Opioids	34
3.2.2. Tricyclic antidepressants	34
3.2.3. 5HT3 antagonists	35
3.2.4. 5HT4 agonists	35
3.2.5. Oral corticotherapy	35

3.2.6.	Cholestyramine	36
3.2.7.	Antibiotics	36
3.2.8.	Probiotics	37
3.2.9.	Prebiotics	38
3.2.10.	Sinbiotics	38
3.2.11.	Prophylaxis	39
3.3.	Fecal transplant	40
4.	Post-infectious irritable bowel syndrome - prognosis	40
PERSONAL CONTRIBUTION		42
1.	Work hypothesis/objectives	44
2.	General methodology	44
3.	Study 1 - Risk factors of the post-infectious irritable bowel syndrome	46
3.1.	Introduction	46
3.2.	Work hypothesis/objectives	47
3.3.	Materials and method	48
3.4.	Results	49
3.5.	Discussion	57
3.6.	Conclusions	60
4.	Study 2 - Post-infectious irritable bowel syndrome and the <i>Clostridioides difficile</i> infection	62
4.1.	Introduction	62
4.2.	Work hypothesis/objectives	64
4.3.	Materials and method	64
4.4.	Results	65
4.5.	Discussion	71
4.6.	Conclusions	73
5.	Study 3 - Incidence of irritable bowel syndrome depending on the severity of <i>Clostridioides difficile</i> infection	74
5.1.	Introduction	74
5.2.	Work hypothesis/objectives	75
5.3.	Materials and method	75
5.4.	Results	76
5.5.	Discussions	79
5.6.	Conclusions	80
6.	General conclusions	82
7.	Originality and innovative contributions of the thesis	84
REFERENCES		86
APPENDICES		96
	ROMA III Questionnaire (Irritable bowel)	96
	Bristol stool form scale	100

Keywords: post-infectious irritable bowel syndrome, acute infectious gastroenteritis, polymerase chain reaction, Clostridioides difficile infection, ROMA III questionnaire, Bristol stool form scale

INTRODUCTION

IBS (IBS) remains a pathology that creates difficulties for the medical system, both in terms of diagnosis and in the management of the patients diagnosed with this disease. IBS is the most common digestive function disorder encountered in medical practice. IBS is considered to be a chronic, long-lasting disease with exacerbations that sometimes affect patients' quality of life. Researchers' interest for this disorder is constantly growing. However, a series of data related to etiopathogenesis and treatment are incompletely known. Until now, the pathophysiological mechanisms underlying this condition are still incompletely elucidated, some of them being visceral hypersensitivity, alteration of gastrointestinal motility, activation of the immune system, changes in the gut-brain axis and the most recent being represented by the modification of the gut microbiota. Although a definite cause of the irritable bowel syndrome has not yet been identified, the involvement of bacteria in the pathogenesis of this disease could be of very high importance.

Within IBS there is a category of patients who describe the onset of the irritable bowel syndrome symptoms after an episode of acute gastroenteritis, a syndrome known as post-infectious irritable bowel syndrome (PI-IBS). In this subgroup of patients, the changes caused by the infection dynamically disappeared, but digestive symptoms persist.

In the present thesis I looked at some aspects related to the etiopathogenesis and risk factors involved in the occurrence of PI-IBS within groups of patients selected from the Infectious Diseases Hospital, Cluj-Napoca. The selected patients presented an episode of acute gastroenteritis in which the etiological agent was isolated both by direct examination (stool parasitology examination - microscopy), bacteriological examinations (stool culture) as well as by immunological examinations (Rotavirus/Adenovirus/Norovirus /Astrovirus rapid test, Giardia lamblia antigen, determination of toxins A and B for *Clostridioides difficile*, the polymerase chain reaction for *Clostridioides difficile*).

In the first part of the thesis I determined the risk of the occurrence of PI-IBS depending on the infectious etiology, 6 months after the acute gastroenteritis episode. Taking into consideration that the data from the literature describe an increased incidence of PI-IBS in female patients, I also assessed the PI-IBS gender distribution. Since the data regarding PI-IBS is very scarce in our country, in the second part of the thesis I aimed to analyze the risk of IBS after a *Clostridioides difficile* infection (CDI) identified by polymerase chain reaction (PCR). Having as hypothesis the fact that the

severity of infectious gastroenteritis could be one of the factors that are involved in the incidence change of PI-IBS among patients, in the third part of the thesis I looked at whether there is a correlation between the severity of the gastroenteritis episode and the occurrence of PI-IBS in patients with CDI.

Study 1. Risk factors of the post-infectious irritable bowel syndrome

Objectives

The objective of this study was to determine the risk of developing PI-IBS depending on the infectious etiology 6 months after the episode of acute gastroenteritis. I observed the distribution of PI-IBS subtypes depending on the etiological agent of AGE. I also evaluated the gender distribution of PI-IBS.

Materials and method

The study was retrospective. The data collection type was case-control. The variables studied were both qualitative and quantitative. The studied population consisted of patients hospitalized in the Clinical Infectious Diseases Hospital, Cluj-Napoca, between 1.01.2013 - 31.12.2015.

The patients were divided into two groups. The case group consisted of patients with an episode of AGE where the etiological agent was isolated:

- by direct examination of the stool: microscopy – stool parasitology examination
- by bacteriological examination – stool culture on culture medium:
 - o Hektoen enteric (HE) Agar – for isolating Shigella and Salmonella from stool samples
 - o Campy CVA Agar – selective medium for primary isolation of Campylobacter jejuni from stool samples
 - o CIN (Cefsulodin, Irgasan, Novobiocin) Agar – selective differential medium for isolating Yersinia enterocolitica from stool samples
- by immunological examinations
 - o Rotavirus/Adenovirus/Norovirus /Astrovirus rapid test (immunochromatography for the simultaneous qualitative detection of Rotavirus, Adenovirus and Norovirus from stool samples);
 - o Giardia lamblia antigen rapid test (immunochromatography for the qualitative detection of Giardia from stool samples);
 - o determination of toxins A and B for Clostridioides difficile (by enzyme immunoassay with fluorescence final detection) - BioMérieux VIDAS® C. difficile ELFA technique.

The type of etiological identification was selected based on clinical examinations and on the patient's epidemiological investigation. The control group consisted of

patients hospitalized in the same medical service for an acute upper respiratory tract infection (AURTI).

Inclusion criteria were: patients over the age of 18 with an episode of AGE where the infectious etiological agent can be determined or an AURTI episode.

Exclusion criteria were: patients under 18 years of age, patients with AGE where the infectious etiological agent could not be isolated, HIV-infected patients, patients who died during this study and patients previously diagnosed with IBS.

Patients filled in the ROMA III questionnaire for the diagnosis of IBS and identified stool consistency with BSFS scale. The questionnaires were printed on paper and filled in directly by patients in both groups 6 months after the acute infectious episode. The average response time was 5 minutes for both questionnaires. The study was approved by the local ethics committee. For the statistical analysis I used SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) program version 24.

Results

The target population consisted of 1073 patients. The patients were divided into two groups. The case group consisted of 873 patients with an episode of infectious AGE, where the etiological agent has been identified. Of this group, 84 patients (10%) died during this study. Out of 789 patients a number of 45 patients aged between 18 and 80 years (mean 57.36) filled in the questionnaires (5%). 744 patients refused to fill in the questionnaires. The reasons for refusing in the case group were: lack of time, not willing to be part of the study and disclose medical data, lack of interest for the field of medical research.

In the patients with AGE group, 56% were diagnosed with PI-IBS (25 patients) and 44% without PI-IBS (20 patients).

In the control group, out of 200 patients who experienced an AURTI episode, 45 patients were selected as appropriate in terms of age and gender; all selected patients filled in the evaluation questionnaires. The response rate in the control group was 100%. Out of the 45 patients with AURTI, 13% were diagnosed with IBS (6 patients) and 87% were without IBS (39 patients).

Regarding the infectious etiology of AGE, out of 8 patients with *Salmonella* spp 5 patients developed PI-IBS. In patients with *Clostridioides difficile*, out of 33 patients 17 patients developed IBS. Out of 3 patients with *Campylobacter jejuni* infection 2 patients developed PI-IBS. The patient with Rotavirus infection developed PI-IBS.

Regarding the PI-IBS subtypes, a favorable distribution was observed for the mixed subtype, both in the case group and in the control group.

The distribution of PI-IBS subtypes according to the infectious etiology of AGE revealed that patients with *Salmonella* spp. infection had an increased incidence of IBS-C and IBS-M. Patients with CDI had SII-D and SII-M, similar to patients with *Campylobacter jejuni*. The patient with Rotavirus infection presented with IBS-U. Patients with *Campylobacter jejuni* infection did not develop IBS-C.

Conclusion

The risk of developing PI-IBS after an episode of infectious AGE is 4.16 times higher than after an episode of AURTI. Females have an increased risk for PI-IBS, 79% of the female patients developed PI-IBS after AGE. The incidence of PI-IBS is the highest in patients with an episode of AGE with *Campylobacter jejuni* as compared to the other pathogens.

Study 2. Post-infectious irritable bowel syndrome and the *Clostridioides difficile* infection

Objectives

The objectives of this study were to determine the risk of developing post-infectious irritable bowel syndrome following an infection with *Clostridioides difficile*.

Materials and method

The study was retrospective. The data collection type was case-control. The variables studied were both qualitative and quantitative. The studied population consisted of 69 patients hospitalized in the Clinical Hospital for Infectious Diseases, Cluj-Napoca between 1.01.2016 - 31.06.2018. Patients were hospitalized for an episode of AGE, during which CDI was suspected based on clinical manifestations (watery diarrhea, sometimes bloody or with mucus), fever, abdominal pain, nausea, associated with the epidemiological investigation of the patient (previous hospitalizations in other medical units, recent antibiotic therapy, proton pump inhibitors treatment or chemotherapy).

The inclusion criteria were patients over 18 years of age with suspected CDI to whom PCR for *Clostridioides difficile* - Cepheid GeneXpert®Dx System was performed.

Exclusion criteria were: patients under 18 years of age, patients without suspected CDI, HIV-infected patients, patients who died during this study.

Patients filled in the ROMA III questionnaire for the diagnosis of IBS and identified stool consistency with the BSFS scale. The questionnaires were printed on paper and filled in directly by patients in both groups 6 months after the acute infectious episode. The average response time was 5 minutes for both questionnaires. The study was approved by the local ethics committee. For the statistical analysis I used SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) program version 24.

Results

Patients ranged in age from 20 to 92 years (mean 60.72). During this study, 31 patients out of a total of 69 patients died. Patients who died during this study were older than 60 years of age and had multiple comorbidities: cardiac, neurological and/or malignant. All 38 patients in the studied population filled in the ROMA III and BSFS questionnaires. Infection with *Clostridioides difficile* was confirmed in 14

patients by PCR considered to be the case group, and the infection was ruled out in 24 patients who were the control group.

In the CDI group, 57% (8 patients) developed PI-IBS 6 months after the acute episode, while 43% (6 patients) did not develop PI-IBS. In the control group 25% developed IBS (6 patients) and 75% (18 patients) did not develop IBS. The incidence of PI-IBS is increased among female patients with CDI with a RR=6.6 (95% CI 1.02 - 43.16) compared to male patients, statistically significant results ($p=0.03$). In patients without CDI the data obtained were not statistically significant ($p=0.87$) so there are no differences in the incidence of IBS depending on the sex of the patients. Correlating the data obtained in the study we noticed that *Clostridioides difficile* infection is a predictive factor in the incidence of PI-IBS in female patients.

Conclusion

In our study we observed that 6 months after CDI, PI-IBS develops in 57% of patients, compared to the control group where CDI was excluded by PCR (43%), statistically significant results ($p=0.04$).

Study 3. Incidence of irritable bowel syndrome depending on the severity of *Clostridioides difficile* infection

Objectives

The aim of this study was to assess whether there is a correlation between the onset of IBS and the severity of the acute episode of *Clostridioides difficile* enteritis.

Materials and method

The study was retrospective. The data collection type was case-control. The variables studied were both qualitative and quantitative. The studied population consisted of 69 patients hospitalized in the Clinical Hospital for Infectious Diseases, Cluj-Napoca between 1.01.2016 - 31.06.2018. Patients were hospitalized for an episode of AGE, during which CDI was suspected based on clinical manifestations (watery diarrhea, sometimes bloody or with mucus), fever, abdominal pain, nausea, associated with the epidemiological investigation of the patient (previous hospitalizations in other medical units, recent antibiotic therapy, proton pump inhibitors treatment or chemotherapy).

The inclusion criteria were patients over 18 years of age with suspected CDI to whom PCR for *Clostridioides difficile* - Cepheid GeneXpert® Dx System was performed.

Exclusion criteria were: patients under 18 years of age, patients without suspected CDI, HIV-infected patients, patients who died during this study.

The severity of the acute *Clostridioides difficile* enteritis was assessed and determined based on the need for hospitalization.

Patients filled in the ROMA III questionnaire for the diagnosis of IBS and identified stool consistency with the BSFS scale. The questionnaires were printed on paper and filled in directly by patients in both groups 6 months after the acute infectious episode. The average response time was 5 minutes for both questionnaires. The study was approved by the local ethics committee. For the statistical analysis I used SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) program version 24.

Results

Patients ranged in age from 20 to 92 years (mean 60.72). During this study, 31 patients out of a total of 69 patients died. Patients who died during this study were older than 60 years of age and had multiple comorbidities: cardiac, neurological and/or malignant. Regarding the severity of the acute enteritis based on the need for hospitalization, 53% of the patients were not hospitalized (20 patients) and 47% were hospitalized (18 patients). The risk of developing PI-IBS was 2.72 (IC 95% 0.80-9.24) or higher compared to the group of patients that did not require hospitalization for CDI, statistically significant results ($p=0.004$).

Conclusion

The severity of the CDI was a risk factor for the development of PI-IBS, 90% of the patients with severe forms of CDI developed PI-IBS.

Originality and innovative contributions of the thesis

IBS represents one of the most frequent pathologies diagnosed worldwide in medical practice.

This doctoral thesis seeks to clarify some aspects related to PI-IBS intensely debated in recent decades by experts in the field. Diagnosed for the first time 60 years ago, it continues to be a public health problem, in particular because the etiopathogenesis is not fully elucidated and, consequently, the treatment is not yet standardized.

Through the subject discussed in this thesis we aimed to open new perspectives on the etiopathogenesis of PI-IBS and its risk factors.

The innovative character consists in the approach of this thesis, respectively in the Chapter The current state of knowledge of the notions related to the pathogenetic involvement of the etiologically infectious agent in the development of PI-IBS, which is basically the newest direction of research in the field. Moreover, it also consists in the reviewing of data from the literature regarding the relationships with the incidence of PI-IBS and its correlation with the severity of the initial infectious disease.

The main merit of this thesis, in addition to reviewing some novel elements, is the investigation within the chapter Personal Contributions of several factors involved in the pathogenesis of PI-IBS.

Starting from the premise of the infectious etiological agent's role in the pathogenesis of PI-IBS we implemented the first study in Romania that determined the

risk of PI-IBS occurrence depending on the infectious etiology, 6 months after an episode of AGE. The results we obtained were statistically significant. The highest risk was observed at patients with AGE with *Campylobacter jejuni* compared to other infectious etiologies. Among patients with PI-IBS, the highest incidence was observed in female patients. We also evaluated the distribution of PI-IBS subtypes depending on the infectious etiology and we observed an increased frequency of the IBS-D subtype as compared to the general population in which IBS-C predominates.

The second part of the thesis deals again with a topic that has not been addressed so far in Romanian research. We analyzed the risk of PI-IBS 6 months after an infection with *Clostridioides difficile* identified by PCR. This study confirms the data from the literature, the incidence of PI-IBS being higher in patients with CDI compared to those in which infection has been ruled out. Moreover, this study adds on the knowledge related to the predominantly diarrheal distribution of the PI-IBS subtype in patients who had CDI.

Although data in the literature exist, we conducted for the first time in Romania a study, which represents the last part of this thesis, addressing the existence of a correlation between the severity of an acute episode of CDI identified by PCR and the risk of developing PI-IBS. From the data obtained we observed that 90% of patients with severe forms of CDI developed PI-IBS 6 months after the acute episode.

In conclusion, this thesis presents both innovative contributions and a high degree of originality, going through different stages of PI-IBS research, materialized in the three chapters of personal research. In the future we hope to be able to continue our studies in this field, providing new data on the pathogenesis of PI-IBS, diagnostic methods, and treatment.