

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/29301> holds various files of this Leiden University dissertation.

**Author:** Bauer, Martijn Philippe

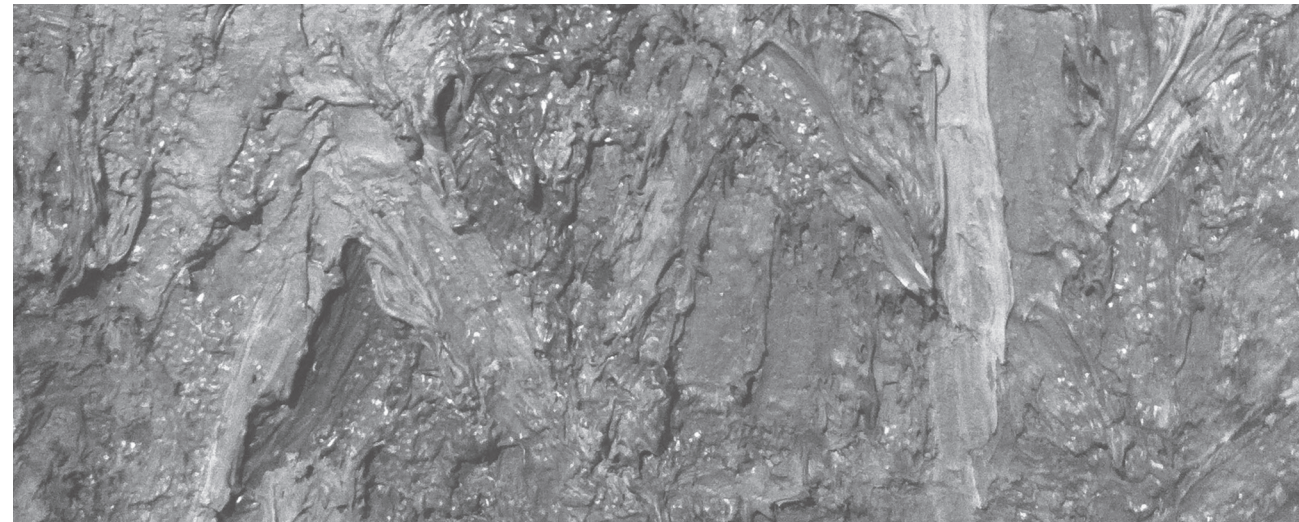
**Title:** Clostridium difficile infection : epidemiology, complications and recurrences

**Issue Date:** 2014-10-22

## Chapter 7

### **Recidieven van *Clostridium difficile*-geassocieerde diarree voorkómen door toediening van een weiconcentraat van specifiek geïmmuniseerde koeien; prospectief onderzoek**

M.P. Bauer, S.C. Numan-Ruberg, O.W. Bredewold, E.J. Kuijper, E.A.N.M. Mooi-Kokenberg, S.B. Debast en J.T. van Dissel



*Ned Tijdschr Geneeskd* 2008;152:1919-26

## Samenvatting

**Doel.** Wij probeerden recidiverende *Clostridium difficile*-geassocieerde diarree (CDAD) te voorkomen door behandeling met een 40%-wei-eiwitconcentraat van melk van koeien, geïmmuniseerd tegen *C. difficile* en zijn toxinen; dit weiconcentraat bevat specifiek neutraliserend secretair IgA.

**Opzet.** Prospectief, niet-geblindeerd, klinisch cohortonderzoek.

**Methode.** In 2005-2006 kregen 100 patiënten met CDAD na een standaard antibiotische behandeling 2 weken weiconcentraat. Tot 60 dagen na de start van de toediening documenteerden wij aan de hand van zelfrapportage, bloedbepalingen en actieve surveillance eventuele bijwerkingen en het optreden van recidief-CDAD.

**Resultaten.** Het weiconcentraat werd goed verdragen en veiligheidsproblemen deden zich niet voor. In 11 van in totaal 109 ziekte-episoden (10%) trad een recidief-CDAD op. Na de behandeling met weiconcentraat bleek een positieve fecestoxine-uitslag of feceskweek van *C. difficile* samen te gaan met een recidief-CDAD (relatief risico respectievelijk: 8,2 (95%-BI: 1,04-64) en 4,7 (95%-BI: 0,5-47)). Een positieve fecestoxine-uitslag tijdens de toediening van weiconcentraat ging samen met een vroeg CDAD-recidief.

**Conclusie.** In vergelijking met historische en contemporaine bevindingen bij controle-groepen leek weiconcentraat het optreden van een recidief-CDAD met circa 50% te verminderen. Waarschijnlijk schoot de standaarddosering weiconcentraat tekort om in alle episoden de *C. difficile*-toxinen in feces te neutraliseren.

*Clostridium difficile*-geassocieerde diarree (CDAD) ontstaat als bij een individu dat besmet is met sporen van de anaerobe grampositieve bacterie *C. difficile*, de sporen in de darm ontkiemen tot de vegetatieve vorm en toxinen gaan produceren. Het enterotoxine A en het cytotoxine B beschadigen darmslijmvlies en veroorzaken diarree. Daarbij kan het gaan om een gering ongemak, maar een pseudomembraneuze colitis of een toxisch megacolon kan ook voorkomen.<sup>1</sup>

De behandeling van patiënten met CDAD richt zich op het tenietdoen van de gevolgen van diarree, zoals dehydratie, en op eradicatie van de toxineproducerende bacteriën. Bij lichte vormen van CDAD kan het beëindigen van een uitlokkende antibiotische behandeling voldoende zijn om de diarree te stoppen.<sup>2,3</sup> Dit heeft als voordeel dat de residente flora van de darm niet verder verstoord wordt. Normaliter biedt darmflora bescherming tegen uitgroei van *C. difficile*, doordat de oppervlakte van de darm wordt afgeschermd en door de competitie om voedingsstoffen.

Als de patiënt een zieke indruk maakt of koorts en frequente of bloederige diarree heeft, zijn antibiotica geïndiceerd.<sup>1,2</sup> Het doel daarvan is de diarree in een kort tijdsbestek onder controle te brengen, dat wil zeggen voor klinische genezing te zorgen én de kans op het terugkeren van de diarree zo klein mogelijk te maken. Bij voorkeur dient een behandeling *C. difficile* uit de darm te elimineren; zo kan microbiologische genezing worden bereikt.

**Frequente recidivering van CDAD.** In een recente *Cochrane*-review is vastgesteld dat standaardbehandeling met vancomycine of metronidazol bij de meeste patiënten (> 90%) tot een verbetering van het symptomenbeeld leidt.<sup>4</sup> Maar bij ruim 20% van de patiënten treedt een recidief van CDAD op, meestal binnen 1-2 weken na het staken van het antibioticagebruik.<sup>1,4</sup> De kans op een recidief-CDAD blijkt hoger na infectie met de nieuwe epidemische stam *C. difficile* ribotype 027,<sup>5,6</sup> die ook Nederland is vastgesteld.<sup>7</sup> Terugkerende CDAD vormt een belangrijk gezondheidsprobleem, voor de patiënt die door aanhoudende diarree uitgeput raakt en ook voor de arts, die tevergeefs zal zoeken naar evidence-based richtlijnen om terugkerende CDAD te voorkomen. Verder zijn de verpleegkosten hoog.<sup>8,9</sup>

Immunisatie van koeien met *C. difficile*, enterotoxine A en cytotoxine B leidt tot specifiek secretair IgA in de melk. Een 40%-concentraat van wei-eiwit van de melk van geïmmuniseerde koeien bevat een hoge concentratie van specifiek secretair IgA.<sup>10</sup>

Wij onderzochten de toepassing van dat weiconcentraat voor passieve immunotherapie bij patiënten met CDAD en tevens voor de preventie van een terugkerende episode van diarree.

## Methoden en patiënten

**Weiconcentraat gericht tegen *C. difficile*.** Het weiconcentraat (40%) met polyklonale, specifieke secretore IgA-antistoffen tegen *C. difficile* wordt gemaakt van de melk van koeien die geïmmuniseerd zijn met door formaldehyde gedode *C. difficile* en met geïnactiveerde toxinen uit een kweekfiltraat van *C. difficile*. Door een combinatie van nasale immunisatie en lokale immunisatie in de supramammaire lymfklieren van koeien met een stimulans gebaseerd op de toxigene *C. difficile*-stam VPI 10463, verkrijgt men een hoge concentratie van specifiek secretoir IgA in melk.<sup>10</sup> Ondanks deze hoge concentratie verschilt de totale hoeveelheid immunoglobuline niet van die in melk van niet-geïmmuniseerde koeien. Immunisatie beïnvloedt dus niet de hoeveelheid immuunglobulinen in de melk, maar de specificiteit. Uit de melk wordt volgens standaardmethoden uit de zuivelindustrie wei-eiwit gezuiverd, dat voldoet aan de Nederlandse kwalificaties voor samenstelling, microbiologische veiligheid en houdbaarheid van wei-eiwitconcentraat en consumptiemelk.<sup>11</sup> Het vloeibare product, in dit artikel verder aangeduid met 'weiconcentraat', wordt uitgevuld in sachets met elk 5 g. Antistoffen in het weiconcentraat neutraliseren in vitro de cytotoxische werking van *C. difficile*-toxinen en bieden in een diermodel met hamsters bescherming tegen darmontsteking door *C. difficile*.<sup>10</sup>

**Patiënten en cohortonderzoek.** In een prospectief klinisch open-labelcohort-onderzoek (Leids Universitair Medisch Centrum; protocolnummer: 2002.222) onderzochten wij het weiconcentraat. Wij includeerden patiënten met diarree en een positieve uitslag op de fecestoxinetest en een positieve fecesweek op *C. difficile*. Als exclusiecriteria gold een pre-existente darmaandoening, waardoor de interpretatie van de consistentie en de frequentie van de ontlasting problematisch zou zijn. Bij een specialistische diagnose "melkallergie" of "melkintolerantie" kon een patiënt evenmin deelnemen. Tenslotte moest de patiënt het product oraal of tenminste per maagsonde kunnen innemen.

Alle deelnemers ontvingen tenminste 10 dagen standaard antibiotische therapie voordat gestart werd met de toediening van weiconcentraat. De keuze van de antibiotische behandeling (metronidazol of vancomycine) werd overgelaten aan de behandelend arts. Het weiconcentraatpreparaat werd opgelost in mineraalwater en gedurende 14 dagen in een dagelijkse dosering van 15 g, verdeeld over 3 giften, ingenomen, zo mogelijk 1 h vóór de maaltijd. De standaarddosering weiconcentraat werd gekozen naar rato van de effectieve dosis in het gevalideerde proefdiermodel, op basis van literatuurgegevens en op basis van het eerste pilotonderzoek bij patiënten.<sup>10</sup>

Enkele dagen nadat de inname was beëindigd werd de patiënt bezocht, waarbij de therapietrouw werd beoordeeld door eventueel overgebleven sachets te tellen. Patiënten hielden tot 60 dagen nadat zij begonnen waren met de inname een

dagboek bij, waarin zij behalve eventuele bijwerkingen ook de consistentie van de feces noteerden (aangeduid als "normaal", "semi-vast" of "waterig") en de frequentie van de ontlasting; deze gegevens waren bij de laatste 80 patiënten gedocumenteerd. Ook werden patiënten tussendoor bezocht en aan het einde van het onderzoek telefonisch geïnterviewd.

**Onderzoeksuitkomsten.** Als primaire onderzoeksuitkomst gold de veiligheid van het weiconcentraat. In dit verband werden bijwerkingen en complicaties gedocumenteerd; ook bepaalden wij een breed scala aan hematologische en biochemische bloedwaarden vóór en na inname van het weiconcentraat.

Een secundaire onderzoeksuitkomst was het optreden van een nieuwe episode van diarree (recidief) in de 60 dagen van de follow-up. Een klinisch recidief werd vastgesteld als de patiënt een verandering van de consistentie van de ontlasting rapporteerde (bijvoorbeeld van "normaal" naar "semi-vast") samen met een toename van de ontlastingsfrequentie over 2 opeenvolgende dagen of een toename van de ontlastingsfrequentie van 3 of meer keren op één dag; ook kon het gaan om elke dag dat de patiënt aangaf meer dan 6 keer ontlasting te hebben. Bij het vermoeden van een recidief bepaalden wij de toxinen in de feces en verrichtten wij de feceskweken op *C. difficile* (fecestoxinebepaling vond plaats met de "enzyme-linked fluorescent assay", VIDAS, BioMérieux, Marcy l'Etoile, Frankrijk).<sup>12</sup>

Onafhankelijk van de kwaliteit van de ontlasting verrichtten wij bij alle patiënten na het beëindigen van de behandeling met weiconcentraat een fecestoxinebepaling en fecesweek, namelijk op dag 14-18. Bij een groot deel van de patiënten ( $n = 78$ ) deden wij dat ook bij het beëindigen van de follow-upperiode op dag 60.

**Berekeningen.** Vooraf werd geen formele poweranalyse verricht. De gegevens werden geanalyseerd met descriptieve statistische methoden; categorische variabelen werden vergeleken met de  $\chi^2$ -toets.

## Resultaten

**Patiënten.** In een periode van 2,5 jaar screenden wij 136 patiënten en namen wij er 101 op in het onderzoek (tabel 1). Aanvankelijk werden vooral patiënten uit de Leidse regio geïncludeerd, maar tijdens de nationale uitbraak van CDAD in 2005<sup>8</sup> ook uit andere plaatsen in het land, met name uit Amersfoort, Gouda en Den Haag. Veel patiënten waren bij de start van het onderzoek opgenomen in een zorginstelling; nacontroles konden bij de meesten door een researchverpleegkundige thuis plaatsvinden. Van de gescreende patiënten werden 35 niet in het onderzoek opgenomen, omdat er geen informed consent verkregen was ( $n = 30$ ), omdat de patiënt overleed vóór de standaard antibiotische behandeling was afgesloten ( $n = 3$ ), of op verzoek van de behandelend arts ( $n = 2$ ).

**Tabel 1** Kenmerken van 101 patiënten met *Clostridium difficile*-geassocieerde diarree (CDAD; 109 ziekte-episoden)\*, die gedurende 2 weken behandeld werden met een weiconcentraat van immune koeien voor het voorkómen van een CDAD-recidief na standaard antibiotische therapie met vancomycine of metronidazol

kenmerk	
♂:♀	50:51
mediane leeftijd in jaren (interkwartielafstand)	74 (53-80)
mediane lengte in m (interkwartielafstand)	1,70 (1,66-1,79)
mediaan gewicht in kg (interkwartielafstand)	65 (58-80)
onderliggende aandoening; n†	
cardiovasculaire ziekte	21
longziekte	28
leverziekte	9
nierinsufficiëntie	6
immuungecompromitteerde status	31
“chronic health”-score; n†	101
score 0	44
score 2	8
score 5	49
episode van CDAD; n	109
eerste	65
een of meer recidieven	44
<i>C. difficile</i> ; PCR-ribotype 027; n/n	24/106‡
behandeling van de laatste episode; n	109
vancomycine	58
metronidazol	48
combinatie van deze twee	3
laboratoriumwaarden bij aanvang van de behandeling met weiconcentraat; mediaan (interkwartielafstand)	
leukocytenaantal x 10 <sup>9</sup> /l	9,5 (7-14)
creatinine in μmol/l	85 (68-126)
albumine in g/l	30 (21-36)

\* Van de patiënten overleed er 1 na inclusie, maar vóórdat het weiconcentraat ingenomen kon worden; van deze patiënt zijn de kenmerken hier wel opgenomen.

† Onderliggende aandoeningen en “chronic health”-score opgegeven volgens relevante onderdelen in het prognostisch “Acute physiology, age, chronic health evaluation”(APACHE)-scoringssysteem;<sup>13</sup> hoe hoger de score, hoe meer comorbiditeit.

‡ In 3 episoden was geen typering van de *C. difficile*-stam mogelijk.

De meeste geïncludeerde patiënten waren 65 jaar of ouder en hadden een duidelijke onderliggende medische aandoening; bijna de helft had een “chronic health”-score van 5 volgens het “Acute physiology, age, chronic health evaluation”- (APACHE)-scoringssysteem (zie tabel 1).<sup>13</sup>

Eén patiënt overleed na inclusie, maar vóór inname van het weiconcentraat. Zijn kenmerken staan wel in tabel 1, maar deze CDAD-episode werd bij de verdere berekeningen buiten beschouwing gelaten.

Bij de overgebleven 100 patiënten werd weiconcentraat toegepast tijdens in totaal 109 episoden van CDAD: 65 maal kreeg de patiënt het concentraat na een eerste episode en 44 maal na één of meer CDAD-recidieven; 1 patiënt nam 3 maal een kuur weiconcentraat en 7 patiënten deden dat 2 maal (zie tabel 1).

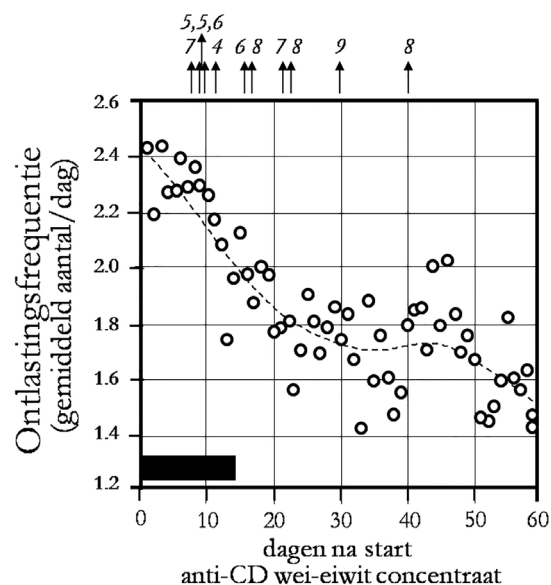
**Veiligheid van het weiconcentraat en therapietrouw.** 8 patiënten maakten de kuur van 14 dagen niet af: 4 vanwege de smaak van het concentraat, 1 vanwege een vroeg recidief, 1 patiënt omdat die kwam te overlijden aan een onderliggende medische conditie die niet aan de inname van het weiconcentraat was gerelateerd, en 2 patiënten omdat de arts alle medicamenteuze behandelingen bij hen beëindigde op grond van progressie van een onderliggende aandoening. Tijdens de 60 dagen follow-up overleden 5 patiënten door progressie van een onderliggende aandoening. In geen van deze gevallen was er naar het oordeel van de behandelende artsen een relatie met het weiconcentraat. Afgezien van de 4 deelnemers die afzagen van verdere inname op grond van de smaak werd het weiconcentraat goed verdragen.

Een uitgebreide screening van bloedparameters vóór en na het gebruik van het weiconcentraat en een evaluatie van de complicaties toonden geen negatieve invloed van het weiconcentraat. Het functioneren van de patiënten, afgemeten aan de Karnofsky-score, en de gastro-intestinale kwaliteit-van-levenscore volgens de European Organisation for Research and Treatment of Cancer (EORTC)<sup>14</sup> verbeterden significant tijdens de inname van het concentraat. Gedetailleerde gegevens over de veiligheid van het weiconcentraat en de gecontroleerde bloedparameters zijn elders gepubliceerd.<sup>11</sup>

Op de 4 patiënten na (< 5%) die de inname staakten wegens onvrede met de smaak van het product bleek de inname te zijn, afgemeten aan het ontbreken van overgebleven sachets, goed te zijn.

**Recidiverende CDAD na gebruik van het weiconcentraat.** Na de 10 dagen standaard antibiotische therapie was de gemiddelde ontlastingsfrequentie ondanks een verbetering van de symptomen bij alle patiënten nog steeds verhoogd, tot gemiddeld 2,4 keer per dag. In de loop van 4 weken nam de ontlastingsfrequentie af tot circa 1,7 keer per dag, waarna deze rond deze waarde stabiliseerde (figuur). De ontwikkeling van de fecesconsistentie liep hierop vooruit; de meeste mensen noemden de feces na circa 2-3 weken “semi-vast” tot “vast”. Kortom, kort na het beëindigen van een 10-daagse antibiotische behandeling waren de ontlastingsfrequentie en -consistentie van veel patiënten nog niet genormaliseerd, en gemiddeld duurde het circa 4 weken voordat weer van een normaal ontlastingspatroon gesproken kon worden.

Bij 10 van de 100 patiënten werd aan de criteria voor een recidief-CDAD voldaan; 1 patiënt kreeg 2 maal een recidief en gebruikte in totaal 3 maal een kuur wei-



**Figuur** Dagelijkse gemiddelde frequentie van ontlasting bij patiënten met *Clostridium difficile*-geassocieerde diarree (CDAD) die werden behandeld met een weiconcentraat van tegen *C. difficile* geïmmuniseerde koeien. De behandeling duurde van dag 1-14 en is aangegeven met een balkje onder de horizontale as. Onder de grafiek staat de dagelijkse ontlastingsfrequentie tijdens 11 episoden die voldeden aan de definitie van "recidief-CDAD"; de pijlen geven het moment van het recidief aan.

concentraat; 7 patiënten met een recidief gebruikten het weiconcentraat 2 maal, 2 anderen zagen af van een 2e kuur. Er was dus in 11 van de 109 episoden (10%) sprake van een CDAD-recidief.

In 5 episoden trad het recidief op tijdens inname van het weiconcentraat (zie de figuur), in 2 episoden binnen 3 dagen na het staken van het concentraatgebruik en in 4 tijdens de follow-up, na respectievelijk 21, 22, 30 en 40 dagen. In alle gevallen van recidief lag de ontlastingsfrequentie evident buiten het groepsgemiddelde (zie de figuur) en was zowel de uitslag van de fecestoxinebepaling als van de feceskweek op *C. difficile* positief. Dit gold ook voor patiënten die tijdens de inname van weiconcentraat een recidief kregen.

De keuze van de voorafgaande standaard antibiotische behandeling (vancomycine versus metronidazol; zie tabel 1) hing niet samen met het percentage recidieven

( $p > 0,25$ ). In 4 van de 24 episoden van CDAD door PCR-ribotype 027 trad een recidief op (17%), vergeleken met 7 van de 82 (9%) episoden veroorzaakt door een ander ribotype. De gemiddelde tijdsduur tot het optreden van een recidief verschilde overigens niet tussen infecties veroorzaakt door PCR-ribotype 027 of door andere ribotypen.

**Recidief van CDAD gerelateerd aan fecestoxinebepaling en feceskweek.** In 7 episoden trad een recidief op tijdens of vlak na de inname van weiconcentraat (zie de figuur). In deze episoden was de uitslag van de fecestoxinebepaling positief. Mogelijk was de dosering wei-eiwit onvoldoende om de werking van de toxinen compleet te neutraliseren en waarschijnlijk speelde dit een rol bij het optreden van het recidief. Deze hypothese werd gesteund door de bevinding dat een positieve fecestoxine-uitslag kort na het staken van de behandeling met weiconcentraat het optreden van een latere recidief-CDAD voorspelde (tabel 2). Na het voltooien van de behandeling met weiconcentraat hadden 12 van 96 patiënten nog een positieve fecestoxine-uitslag; van deze 12 kregen 2 een recidief (17%) tegenover slechts 2 van 84 patiënten (2%; relatief risico (RR): 8,20; 95%-BI: 1,04-64) met een negatieve fecestoxine-uitslag.

**Tabel 2** Risico op een recidief van *Clostridium difficile*-geassocieerde diarree (CDAD) bij patiënten die gedurende 2 weken behandeld werden met een weiconcentraat van immune koeien, in samenhang met de uitslagen van bepalingen in feces van toxinen van *C. difficile* en van bacteriekweek. Vóór de behandeling met weiconcentraat hadden de patiënten standaard antibiotische therapie met vancomycine of metronidazol gekregen\*

fecetest	aantal op dag 18-21	recidieven van CDAD; n/n (%)†	RR (95%-BI) van een positieve testuitslag voor recidief-CDAD
toxine-uitslag (n = 96)			
positief	12‡	2/12 (17)	8,2 (1,04-64)
negatief	84	2/84 (2)‡	
kweekuitslag (n = 98)			
positief	39	3/39 (8)	4,7 (0,6-47)
negatief	59	1/59 (2)‡	

RR = relatief risico.

\* Er voldeden 7 patiënten aan de definitie van "recidief-CDAD" vóór dag 18; bij allen waren de toxine-uitslagen en de feceskweken positief op respectievelijk dag 7, 8, 8, 10, 16 en 17.

† Er hadden 4 patiënten een recidief-CDAD op respectievelijk dag 21, 22, 30 en 40.

‡ Eén patiënt met een negatieve toxine- en kweekuitslag op dag 18-21, maar met toch een recidief-CDAD op dag 40, was opgenomen in een ziekenhuis waarin zich een epidemische verheffing van CDAD door ribotype 027 voordeed.

Eenzelfde verband gold voor de aanwezigheid van *C. difficile* in de feceskweek kort na het staken van de behandeling met weicontraat: in 3 van de 39 episoden (8%) met een positief kweekresultaat deed zich een recidief-CDAD voor, tegen 1 op 59 gevallen (< 2%) met een negatieve feceskweek (RR: 4,7; 95%-BI: 0,5-47). De 12 fecestoxinepositieve patiënten hadden ook een positieve feceskweek. Overigens, bij 1 patiënt met een laat recidief (op dag 40) was na het staken van de behandeling met weicontraat de toxine-uitslag negatief en was *C. difficile* niet aantoonbaar in de feceskweek. Deze patiënt was steeds opgenomen geweest op een afdeling met een epidemische verheffing van CDAD door ribotype 027 en mogelijk werd dit recidief veroorzaakt door een opnieuw exogeen verkregen *C. difficile* ribotype 027.

Van 78 patiënten zonder recidief waren feces, verzameld op dag 60, beschikbaar voor onderzoek. Bij 2 van hen bleek de fecestoxine-uitslag nog positief (2,6%; bevestigd in cytotoxiciteitstest) en bij 12 (15%) werd *C. difficile* geïsoleerd uit de feceskweek. Bij geen van deze 78 patiënten trad in het jaar na het onderzoek een recidief-CDAD op, hetgeen bleek uit telefonisch verkregen informatie.

Tenslotte, om beter te begrijpen of het weicontraat in de standaarddosering van 15 g per dag inderdaad compleet de *C. difficile*-toxinen in de darm neutraliseerde, werd bij 18 patiënten enkele dagen na de start van de behandeling nagegaan of de fecestoxine-uitslag negatief geworden was. Bij 4 patiënten (22%) was die uitslag nog positief. Bij 1 van deze 4 patiënten trad kort daarna een recidief-CDAD op, tegen géén van de 14 patiënten met een negatieve fecestoxine-uitslag tijdens inname van het weicontraat ( $p < 0,05$ ).

## Beschouwing

In dit prospectieve onderzoek leek de inname van het immune weicontraat na standaard antibiotische behandeling het optreden van CDAD-recidieven met circa de helft te kunnen verminderen. Deze conclusie berust op een vergelijking van het percentage recidief-CDAD in deze verkennende studie (10%) met gerapporteerde recidiefpercentages in de medische literatuur van 20-45 en met de Nederlandse gegevens over de uitbraak van 2005 met 25% recidieven.<sup>5 6 15</sup> Hierbij merken wij op dat ons verkennende prospectieve onderzoek niet geblindeerd was en dat de bevindingen nu bevestigd moeten worden door gecontroleerd klinisch onderzoek.

Het weicontraat bevat hoge concentraties van specifiek secretair IgA gericht tegen *C. difficile* en zijn toxinen, en de werkzaamheid zou berusten op passieve immunotherapie. Het weicontraat werd goed verdragen en de innametroew was goed, zeker gezien de oudere patiëntengroep en de vaak ernstige onderliggende medische aandoeningen.

Er is in de literatuur een aantal meldingen van oraal gebruik van wei of koeien-immunoglobulinen. Die werden ingezet bij de behandeling of preventie van maag- of

darminfecties, zoals met *Helicobacter pylori*, en bij diarree door enterotoxigene *Escherichia coli*, *Rotavirus* en *Shigella flexneri*.<sup>16-19</sup> Net als in ons onderzoek werden geen klinisch relevante bijwerkingen van orale inname van deze concentraten gemeld.

Er bestaat onduidelijkheid over de aanpak van terugkerende CDAD.<sup>1 3 8 9</sup> Bij de behandeling is gunstige ervaring opgedaan met specifieke schema's van vancomycine, waarbij het middel na standaardbehandeling over een aantal weken afgebouwd ('taper'-schema) respectievelijk intermitterend gegeven wordt ('pulse'-schema).<sup>20</sup> Maar elke behandeling met antibiotica, vancomycine en metronidazol inbegrepen, hoe noodzakelijk ook, vergroot de kans op het terugkeren van CDAD, omdat antibiotica de residente darmflora negatief beïnvloeden en *Clostridium*-sporen resistent zijn tegen antibiotica. Komt een patiënt dan ook eenmaal in een neergaande spiraal van terugkerende CDAD, dan wordt de kans op een recidief steeds groter en deze bedraagt uiteindelijk wel 60-70%.<sup>8 9</sup> Dit is de reden dat gezocht wordt naar alternatieve behandelingen, in plaats van of naast het gebruik van antibiotica (tabel 3). Een uitvoerige bespreking van deze alternatieven vindt men elders.<sup>3 8 9</sup>

Geconcludeerd kan worden dat er nog onvoldoende bewijs bestaat voor de werkzaamheid van verschillende behandelingen, met gerapporteerde succespercentages die uiteenlopen van 30-100. Daarbij kan men denken aan intraveneuze infusie van immuunglobuline, bacteriotherapie of fecale transplantatie, toxineabsorberende harsen of probiotica, maar ook aan de taper- en pulsebehandeling met vancomycine. De hypothese achter passieve immunotherapie van CDAD met weicontraat is dat specifieke antilichamen de toxinen van *C. difficile* in de darm kunnen neutraliseren, en de vegetatieve vorm van de bacterie kunnen beletten zich aan de darmoppervlakte te hechten door afscherming van adhesiefactoren. Verdere beschadiging van darmslijmvlies wordt daarmee voorkomen zonder de residente darmflora negatief te beïnvloeden. De darm zal de sporen van *C. difficile* uiteindelijk zelf klaren. Voor deze hypothese bestaat dierexperimentele onderbouwing.<sup>10</sup> Daarnaast onderscheidt het gebruik van weicontraat zich van de meeste andere alternatieve behandelingen, doordat het pathogeenspecifiek is. De secretair-IgA-antistoffen in het weicontraat zijn polykonaal, zodat op meerdere plaatsen op de bacteriën en toxinen van *C. difficile* aangegrepen kan worden.<sup>11</sup> In principe zou het weicontraat ook toegepast kunnen worden in combinatie met antimicrobiële therapie, of preventief bij contacten tijdens een epidemische verheffing van CDAD.

Het dagelijks bijhouden van frequentie en consistentie van ontlasting laat zien hoe belangrijk het is een strikte definitie van "recidief-CDAD" te hanteren. Het is ons immers duidelijk geworden dat de meeste patiënten na het voltooien van de standaard antibiotische behandeling nog wekenlang een hogere ontlastingsfrequentie dan normaal en een afwijkende fecesconsistentie hadden. Bovendien was bij een hoog percentage (circa 10) van de patiënten aanvankelijk nog *C. difficile*-fecestoxine in de ontlasting aantoonbaar, zonder dat er sprake was van een recidief. Ofschoon een

**Tabel 3** Niet-antibiotische behandeling van terugkerende *ClostridiumClostridium difficile*-geassocieerde diarree (CDAD): gerandomiseerde gecontroleerde klinische onderzoeken en observationele studies

1e auteur	behandeling	aantal patiënten	succes (in %)
<b>gerandomiseerd, gecontroleerd klinisch onderzoek</b>			
probiotica			
McFarland <sup>21</sup>	vancomycine of metronidazol + <i>Saccharomyces boulardii</i> 2 x 10 <sup>10</sup> KVE/d gedurende 4 wkn	26	65
Surawicz <sup>20</sup>	vancomycine of metronidazol + placebo	34	35
	vancomycine 500 mg 4 dd gevolgd door <i>S. boulardii</i> 2 x 10 <sup>10</sup> KVE/d gedurende 4 wkn	18	83
	vancomycine 500 mg 4 dd gevolgd door placebo gedurende 4 wkn	14	50
	vancomycine 125 mg 4 dd gevolgd door <i>S. boulardii</i> 2 x 10 <sup>10</sup> KVE/d gedurende 4 wkn	45	49
	vancomycine 125 mg 4 dd gevolgd door placebo gedurende 4 wkn	38	55
	metronidazol 1 g/d gevolgd door <i>S. boulardii</i> 2 x 10 <sup>10</sup> KVE/d, gedurende 4 wkn	27	52
Wullt <sup>22</sup>	metronidazol 1 g/d gevolgd door placebo gedurende 4 wkn	26	50
	metronidazol + <i>Lactobacillus plantarum</i> 299v 5 x 10 <sup>10</sup> KVE/ d gedurende 38 dgn	12	58
Lawrence <sup>23</sup>	metronidazol + placebo gedurende 38 dgn	9	33
	vancomycine of metronidazol gevolgd door <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG 6 x 10 <sup>11</sup> KVE/d gedurende 21 dgn	8	62
	vancomycine of metronidazol gevolgd door placebo gedurende 21 dgn	7	86
<b>observationale onderzoek</b>			
Probiotica			
Gorbach <sup>24</sup>	metronidazol of bacitracine, 10 dgn, gevolgd door <i>Lactobacillus</i> GG 10 <sup>10</sup> KVE/d, 7-10 dgn	5	80
Biller <sup>25</sup>	<i>L. rhamnosus</i> GG 6 x 10 <sup>8</sup> KVE/d gedurende 14 dgn	4	100
bacteriotherapie en fecestransplantatie			
Bowden <sup>26</sup>	fecaal klysma	16	81
Tvede <sup>27</sup>	fecaal of bacterieel klysma	6	100
Lund-Tønnesen <sup>28</sup>	fecale instillatie door middel van coloscoop of via gastrostomie	18	83
Aas <sup>29</sup>	fecale instillatie door middel van maagsonde, circa 3 keer	16	94
Jorup <sup>30</sup>	fecaal klysma	5	100
Borody*	fecaal klysma	61	100
Lund*	fecale instillatie via jejunumsonde	20	83
Moore*	fecaal klysma	65	97
Aas*	fecale instillatie via maagsonde	9	100
passieve immuuntherapie met humane antistoffen			
Leung <sup>31</sup>	gammaglobuline 400 mg/kg i.v. elke 3 wkn gedurende 4-6 maanden	5	100
Beales <sup>32</sup>	gammaglobuline 400 mg/kg i.v. op d 1 en d 21	4	100
	gammaglobuline i.v., wisselend schema	5	60

KVE = kolonievormende eenheden; d = dag; dgn = dagen; wkn = weken.

\*\*Onderzoek door J. Bakken gepresenteerd tijdens de bijeenkomst van de Infectious Disease Society of America in San Diego, 2007 ([www.idsociety.org/content.aspx?id=7048#Oct\\_4](http://www.idsociety.org/content.aspx?id=7048#Oct_4)).



dergelijke positieve uitslag een voorspellende waarde had voor het optreden van een recidief, herstelde de stoelgang bij de meeste patiënten uit deze groep spontaan. Bij enkele personen was de fecestoxine-uitslag zelfs bij het afsluiten van het onderzoek op dag 60 nog positief, zonder dat dit diarreeklachten gaf. Dit geeft aan dat toxinevormende *C. difficile* na een episode van CDAD nog lange tijd in de darm aanwezig kan zijn zonder klachten van een recidief te veroorzaken. Meer in het algemeen - en los van de huidige interventie - kan men stellen dat een positieve fecestoxine-uitslag na het beëindigen van antibiotische therapie voor CDAD dan ook geen aanleiding dient te zijn een herstellende patiënt direct opnieuw met antibiotica te gaan behandelen. Ook is het de vraag of een dergelijke bepaling routinematig, buiten onderzoeksverband om, uitgevoerd dient te worden.

De dosering van het weicontraat kwam op enigszins arbitraire gronden tot stand, en werd onder andere afgemeten aan de dosering gebruikt in een gevalideerd diermodel en aan eerste gegevens bij patiënten.<sup>15 21-23 33</sup> Dit onderzoek toont aan dat, als men ervan uitgaat dat het weicontraat altijd werkzaam is, bij een klein deel van de patiënten met CDAD een dagelijkse inname van 15 g van weicontraat te gering was om *C. difficile*-toxinen in de feces volledig te neutraliseren. De kans op het optreden van een recidief-CDAD was groter als de fecestoxinebepaling tijdens de inname van weicontraat nog een positieve uitslag had. Hetzelfde gold als kort na het staken van het weicontraatgebruik de uitslag weer positief werd. Het is daarom aannemelijk dat de effectiviteit van de aanpak vergroot wordt door in zulke gevallen de dosering weicontraat te verhogen. Dit is mogelijk door enkele dagen na de start van het gebruik van weicontraat of kort na het staken hiervan, een fecestoxinebepaling te verrichten. Als die positief uitvalt, kan de dosering van het weicontraat worden verhoogd of de inname worden hervat. Voor deze toepassing is nu een 80%-concentraat van het wei-eiwit ontwikkeld, dat bovendien lactosearm is. Inmiddels hebben wij bij enkele CDAD-patiënten ervaring opgedaan met zo'n op de persoon afgestemde aanpak. Hierbij bleek dat na verhoging van de dosering wei-eiwit de fecestoxine-uitslag inderdaad alsnog negatief wordt. Binnenkort zal een prospectief klinisch onderzoek starten om de effectiviteit van een geïndividualiseerde aanpak in een grotere patiëntengroep te bevestigen.

## Conclusie

Onze eerste ervaringen met een weicontraat van koeien geïmmuniseerd tegen *C. difficile* en zijn toxinen tonen dat het preparaat veilig gebruikt kan worden bij patiënten met CDAD voor de preventie van terugkerende episoden van diarree. De dosering moet nader onderzocht worden. De gunstige bevindingen van ons verkennende, ongeblindeerde, prospectieve onderzoek dienen nu bevestigd te worden in gecontroleerde studies.

De toepassing van anti-CD-wei-eiwit-40%-concentraat en het klinisch onderzoek werden mogelijk gemaakt door niet-gerestringeerde financiële ondersteuning van MucoVax BV, Leiden.

Belangenconflict: geen gemeld. Financiële ondersteuning: geen gemeld.

## Literatuur

- 1 Kuijper EJ, Dissel JT van, Wilcox MH. Clostridium difficile: changing epidemiology and new treatment options. *Curr Opin Infect Dis.* 2007;20:376-83.
- 2 Wilcox MH, Spencer RC. Clostridium difficile infection: responses, relapses and re-infections. *J Hosp Infect.* 1992;22:85-92.
- 3 McFarland LV, Elmer GW, Surawicz CM. Breaking the cycle: treatment strategies for 163 cases of recurrent Clostridium difficile disease. *Am J Gastroenterol.* 2002;97:1769-75.
- 4 Bricker E, Garg R, Nelson R, Loza A, Novak T, Hansen J. Antibiotic treatment for Clostridium difficile-associated diarrhea in adults. *Cochrane Database of Syst Rev.* 2005;(1):CD004610.
- 5 McDonald L, Killgore GE, Thompson A, Owens RC Jr, Kazakova SV, Sambol SP, et al. An epidemic, toxin gene-variant strain of Clostridium difficile. *N Engl J Med.* 2005;353:2433-41.
- 6 Pepin J, Alary ME, Valiquette L, Raiche E, Ruel J, Fulop K, et al. Increasing risk of relapse after treatment of Clostridium difficile colitis in Quebec, Canada. *Clin Infect Dis.* 2005;40:1591-1597.
- 7 Krausz S, Bessems M, Boormeester MA, Kuijper EJ, Visser CE, Speelman P. Levensbedreigende infecties met een nieuwe variant van Clostridium difficile. *Ned Tijdschr Geneesk.* 2005;149:2081-6.
- 8 McFarland LV. Alternative treatments for Clostridium difficile disease: what really works? *J Med Microbiol.* 2005;54:101-11.
- 9 Louie TJ. Treatment of first recurrences of Clostridium difficile-associated disease: waiting for new treatment options. *Clin Infect Dis.* 2006;42:765-7.
- 10 Dissel JT van, Groot N de, Hensgens CMH, Numan S, Kuijper EJ, Veldkamp P, et al. Bovine antibody-enriched whey to aid in the prevention of a relapse of Clostridium difficile-associated diarrhoea: preclinical and preliminary clinical data. *J Med Microbiol.* 2005; 4:197-205.
- 11 Young KWH, Munro IC, Taylor SL, Veldkamp PJ, Dissel JT van. The safety of whey protein concentrate derived from the milk of cows immunized against Clostridium difficile. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2007;47:317-26.
- 12 Delmée M. Laboratory diagnosis of Clostridium difficile disease. *Clin Microbiol Infect.* 2001;7:411-6.
- 13 Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med* 1985;13(10):818-29.
- 14 Kemmler G, Holzner B, Kopp M, Dünser M, Margreiter R, Greil R, et al. Comparison of two quality-of-life instruments for cancer patients: the functional assessment of cancer therapy-general and the European Organization for Research and Treatment of Cancer Quality of Life Questionnaire-C30. *J Clin Oncol.* 1999;17:2932-40.
- 15 Steenbergen J van, Debast S, Kregten E van, Berg R van den, Notermans D, Kuijper E. Isolation of Clostridium difficile ribotype 027, toxinotype III in the Netherlands after increase in C. difficile associated diarrhoea. *Euro Surveill.* 2005;10:E050714.1.
- 16 Ruiz JLP. Antibodies from milk for the prevention and treatment of diarrheal disease. In: *Indigenous Antimicrobial Agents of Milk: recent developments. Proceedings of the IDF Seminar, August 31-September 1, 1993, Uppsala, Sweden. International Dairy Federation (IDF). Issue2. Brussels: IDF; 1994, p. 108-21.*
- 17 Rump JA, Arndt R, Arnold A, Bendick C, Dichtelmüller H, Franke M, et al. Treatment of diarrhoea in human immunodeficiency virus-infected patients with immunoglobulins from bovine colostrum. *Clin Invest.* 1992;70:588-94.
- 18 Tacket CO, Losonsky G, Link H, Hoang Y, Guesry P, Hilpert H, et al. Protection by milk immunoglobulin concentrate against oral challenge with enterotoxigenic Escherichia coli. *N Engl J Med.* 1988;318:1240-3.
- 19 Tacket CO, Binion SB, Bostwick E, Losonsky G, Roy MJ, Edelman R. Efficacy of bovine milk immunoglobulin concentrate in preventing illness after Shigella flexneri challenge. *Am J Trop Med Hyg.* 1988;47:276-83.
- 20 Surawicz CM, McFarland LV, Greenberg RN, Rubin M, Fekety R, Mulligan ME, et al. The search for a better treatment for recurrent Clostridium difficile disease: use of high-dose vancomycin combined with Saccharomyces boulardii. *Clin Infect Dis.* 2000;31:1012-7.
- 21 McFarland LV, Surawicz CM, Greenberg RN, Fekety R, Elmer GW, Moyer KA, et al. A randomized placebo-controlled trial of Saccharomyces boulardii in combination with standard antibiotics for Clostridium difficile disease. *JAMA.* 1994;271:1913-8.
- 22 Wullt M, Hagslätt ML, Odenholt I. Lactobacillus plantarum 299v for the treatment of recurrent Clostridium difficile-associated diarrhoea: a double-blind, placebo-controlled trial. *Scand J Infect Dis.* 2003;35:365-7.
- 23 Lawrence SJ, Korzenik JR, Mundy LM. Probiotics for recurrent Clostridium difficile disease. *J Med Microbiol.* 2005;54:905-6.
- 24 Gorbach SL, Chang TW, Goldin B. Successful treatment of relapsing Clostridium difficile colitis with Lactobacillus GG. *Lancet.* 1987;2:1519.
- 25 Biller JA, Katz AJ, Flores AF, Buie M, Gorbach SL. Treatment of recurrent Clostridium difficile colitis with Lactobacillus GG. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1995;21:224-6.
- 26 Bowden TA Jr, Mansberger AR Jr, Lykins LE. Pseudomembraneous enterocolitis: mechanism for restoring floral homeostasis. *Am Surg.* 1981;47:178-83.
- 27 Tvede M, Rask-Madsen J. Bacteriotherapy for chronic relapsing Clostridium difficile diarrhoea in six patients. *Lancet.* 1989;1:1156-60.
- 28 Lund-Tønnesen S, Berstad A, Schreiner A, Midtvedt T. Clostridium difficile-associated diarrhea treated with homologous feces. *Tidsskr Nor Laegeforen.* 1998;118:1027-30.
- 29 Aas J, Gessert CE, Bakken JS. Recurrent Clostridium difficile colitis: case series involving 18 patients treated with donor stool administered via a nasogastric tube. *Clin Infect Dis.* 2003;36:580-5.
- 30 Jorup-Rönström C, Håkanson A, Persson AK, Midvedt T, Norin E. Feces culture successful therapy in Clostridium difficile diarrhea. *Lakartidningen.* 2006;103:3603-5.
- 31 Leung DY, Kelly CP, Boguniewicz M, Pothoulakis C, LaMont JT, Flores A. Treatment with intravenously administered gamma globulin of chronic relapsing colitis induced by Clostridium difficile toxin. *J Pediatr.* 1991;118:633-7.
- 32 Beales IL. Intravenous immunoglobulin for recurrent Clostridium difficile diarrhoea. *Gut.* 2002;51:456.
- 33 Numan SC, Veldkamp P, Kuijper EJ, Berg RJ van den, Dissel JT van. Clostridium difficile-associated diarrhoea: bovine anti-Clostridium difficile whey protein to help aid the prevention of relapses. *Gut.* 2007;56:888-9.

## Abstract

Recurrence of *Clostridium difficile*-associated diarrhoea prevented by the administration of a whey concentrate from specifically immunised cows; prospective study

**Objective.** To try to prevent recurrences of *Clostridium difficile*-associated diarrhoea (CDAD) by treatment with a specific neutralising secretory IgA-enriched whey-protein concentrate (40%) made from the milk of cows immunised with *C. difficile* and its toxins.

**Design.** Prospective, non-blinded, clinical cohort study.

**Method.** In 2005-2006, 100 consecutive patients with CDAD received the whey concentrate for 2 weeks after completion of standard antibiotic therapy. For a period of 60 days after the start of the administration, the safety and preliminary efficacy of the whey concentrate were evaluated by means of a diary, blood determinations, active surveillance for adverse events, and the recurrence of CDAD.

**Results.** The whey concentrate was well tolerated and no safety issues were raised. Eleven out of 109 episodes (10%) were followed by a recurrence. After completion of the whey concentrate therapy, a positive test for faecal toxins or culture of *C. difficile* was predictive for the recurrence of CDAD (relative risk: 8.2 (95% CI: 1.04-64), and 4.7 (95% CI: 0.5-47), respectively). A positive faeces toxin during administration of the whey concentrate was also associated with an early recurrence of CDAD.

**Conclusion.** Compared to historical and contemporary findings in control groups, the whey concentrate appeared to reduce the recurrence of CDAD by about 50%. However, the standard dose of the whey concentrate was probably not sufficient to fully neutralise the *C. difficile* toxins in faeces in all episodes.