

Lekarz Konrad Lewandowski

„Wpływ objawów brzusznych na przebieg kliniczny zakażenia wirusem SARS-CoV-2”.

**Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych
i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne**

Promotor: prof. dr hab. Grażyna Rydzewska

Promotor pomocniczy: dr n. med. Mariusz Rosołowski

Klinika Chorób Wewnętrznych i Gastroenterologii z Pododdziałem
Leczenia Nieswoistych Chorób Zapalnych Jelit CSK MSWiA w Warszawie



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego
Warszawa 2022

Słowa kluczowe:

SARS-CoV-2, COVID-19, objawy brzuszne, infekcja *Clostridioides difficile*

Key words:

SARS-CoV-2, COVID-19, gastrointestinal symptoms, *Clostridioides difficile* infection

Serdecznie dziękuję
Pani Profesor Grażynie Rydzewskiej
oraz Panu Doktorowi Mariuszowi Rosołowskiemu
za inspirację, wsparcie
a przede wszystkim za mobilizację
do napisania niniejszej rozprawy doktorskiej.

Pracę dedykuję mojej Rodzinie i przyjaciółce:

Mamie, Tacie, Babci i Bratu oraz Agnieszce

Za Ich cierpliwość i nieustające wsparcie.

1. Spis treści:

1. Spis treści.....	5
2. Wykaz publikacji stanowiących pracę doktorską.....	6
3. Wykaz stosowanych skrótów.....	7
4. Streszczenie w języku polskim.....	9
5. Streszczenie w języku angielskim.....	14
6. Wstęp.....	19
6.1. SARS-CoV-2 i COVID-19	19
6.2. Etiopatogeneza objawów brzusznych w COVID-19.....	21
6.2.1. Receptor konwertazy angiotensyny 2 (ACE2).....	21
6.2.2. Burza cytokinowa.....	23
6.2.3. Zaburzenia mikrobiomu jelitowego.....	25
6.2.4. Infekcja <i>Clostridioides difficile</i>	26
6.2.5. Powikłania polekowe	27
6.3. Uzasadnienie połączenia publikacji w jeden cykl.....	28
7. Założenia i cel pracy.....	29
8. Materiał i metody.....	29
9. Podsumowanie i wnioski.....	30
10. Kopie opublikowanych prac.....	31
11. Bibliografia.....	53
12. Opinia Komisji Bioetycznej.....	58
13. Oświadczenia wszystkich współautorów publikacji określające indywidualny wkład (udział merytoryczny i procentowy) każdego z nich w ich powstanie.....	62

2. Wykaz publikacji stanowiących pracę doktorską wraz z punktacją:

1. „Gastrointestinal symptoms in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) – friend or foe?”

Lewandowski K, Kaniewska M, Rosołowski M, et al. Gastrointestinal symptoms in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) – friend or foe?. Gastroenterology Review/Przegląd Gastroenterologiczny. 2021. doi:10.5114/pg.2021.111000.

punktacja MNiSW: 40 pkt.

2. „Clostridioides difficile infection in coronavirus disease 2019 (COVID-19): An underestimated problem?”

Lewandowski K, Rosołowski M, Kaniewska M, et al. Polish Arch Intern Med. 2021; 131(2): 121–7. doi:10.20 452/pamw.15715

punktacja MNiSW: 140 pkt.; impact factor: 3.277

3. „Gastrointestinal symptoms in COVID-19”.

Lewandowski K, Kaniewska M, Rosołowski M, et al. Gastrointestinal symptoms in COVID-19. Gastroenterology Review/Przegląd Gastroenterologiczny. 2022. doi:10.5114/pg.2021.112683.

punktacja MNiSW: 40 pkt.

Sumaryczna punktacja MNiSW: 220 pkt.; impact factor: 3.277

3. Wykaz stosowanych skrótów:

ACE2 (ang. angiotensin converting enzyme 2) – enzym konwertujący angiotensynę 2

ARDS (ang. acute respiratory distress syndrome) – zespół ostrej niewydolności oddechowej

CDI (ang. *Clostridioides difficile* infection) – infekcja *Clostridioides difficile*

CKD (ang. cardiovascular disease) – choroba sercowo – naczyniowa

COVID-19 (ang. Coronavirus disease 2019) – ostra choroba zakaźna układu oddechowego wywołana zakażeniem SARS-CoV-2

CRS (ang. cytokine release syndrome) – zespół uwalniania cytokin

CXCL10 (ang. C-X-C motif chemokine ligand 10) – białko 10 indukowane interferonem gamma

DIC (ang. disseminated intravascular coagulation) – zespół rozlanego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego

ECMO (ang. extra corporeal membrane oxygenation) – pozaustrojowa oksygenacja membranowa

G-CSF (ang. granulocyte colony – stimulating factor) – czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów

HIV (ang. human immunodeficiency virus) – wirus ludzkiego nabytego niedoboru odporności

IBD (ang. inflammatory bowel diseases) – nieswoiste choroby zapalne jelit

ICU (ang. Intensive Care Unit) – oddział intensywnej terapii

IL (ang. interleukin) – interleukina

MCP1 (ang. monocyte chemoattractant protein 1) – białko 1 chemoatraktanta monocytów

MERS-CoV (ang. Middle East respiratory syndrome) – koronawirus zespołu oddechowego Bliskiego Wschodu

MIP1 α (ang. macrophage inflammatory protein 1 α) – białko zapalne makrofagów 1 α

MOD (ang. multiple organ dysfunction) – niewydolność wielonarządowa

Mpro (ang. main protease SARS-CoV-2) – główna proteaza cysteinowa SARS-CoV-2

NAP1 (ang. North American Pulse Field Type 1) – *Clostridioides difficile* szczep NAP1

PPI (ang. proton Pump Inhibitor) – inhibitor pompy protonowej

PRR (ang. pattern recognition receptors) – receptory rozpoznające wzorce

RNA (ang. ribonucleid acid) – kwasu rybonukleinowy

RT-PCR (ang. real time polymerase chain reaction) – reakcja łańcuchowa polimerazy w czasie rzeczywistym

SARS-CoV (ang. severe acute respiratory syndrome coronavirus) – koronawirus zespołu ostrej niewydolności oddechowej

SARS-CoV-2 (ang. severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) – koronawirus 2 ciężkiego ostrego zespołu oddechowego

SCFA (ang. short chain fatty acids) – krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe

TNF α (ang. tumor necrosis factor α) – czynnik martwicy nowotworów α

TMPRSS (ang. transmembrane protease serine) - transbłonowa proteaza serynowa

4. Streszczenie w języku polskim:

„Wpływ objawów brzusznych na przebieg kliniczny zakażenia wirusem SARS-CoV-2”.

Cel pracy:

Głównym celem badania było określenie częstości występowanie objawów brzusznych (definiowanych jako występowanie bólu brzucha, biegunki, nudności, wymiotów oraz braku apetytu) pośród pacjentów hospitalizowanych z powodu COVID-19. Zbadano wpływ objawów z przewodu pokarmowego na przebieg COVID-19 z uwzględnieniem czasu ich wystąpienia oraz ich ewentualny związek z lekami stosowanymi w leczeniu SARS-CoV-2.

Pacjenci i metody:

Jest to jednoośrodkowe, retrospektywne badanie kliniczne, do którego włączono 441 pacjentów w wieku 18 lat i starszych z potwierdzonym zakażeniem SARS-CoV-2, hospitalizowanych w okresie od 15 marca do 15 czerwca 2020 r. w Centralnym Szpitalu Klinicznym Ministerstwa Spraw Wewnętrznych i Administracji w Warszawie. Rozpoznanie zostało postawione na podstawie ówczesnie obowiązującego standardu tj. pozytywnego wyniku testu odwrotnej transkryptazy reakcji łańcuchowej polimerazy (geny docelowe: RdRp, E i N) dla SARS-CoV-2 w wymazach z nosogardzieli.

Wyniki:

Występowanie objawów brzusznych (GI) stwierdzono u 255 (57,8%) pacjentów hospitalizowanych z powodu zakażenia SARS-CoV-2. Objawy GI definiowano jako występowanie bólu brzucha, biegunki, nudności, wymiotów oraz braku apetytu. Najczęstszym objawem był brak apetytu, który odnotowano w 124 (48,6%) przypadkach. Inne objawy żołądkowo-jelitowe, takie jak biegunka zaobserwowano u 109 (42,7%), ból brzucha u 95 (37,3%), wymioty u 37 (14,5%) i nudności u 32 (12,5%) pacjentów.

Rozkład płci był podobny w obu grupach tj. 49,4% kobiet w grupie z objawami

z przewodu pokarmowego (grupa badawcza) vs 48,4% w grupie bez objawów z przewodu pokarmowego (grupa kontrolna); $p=0,083$. Pacjenci z objawami GI byli znamienne starsi, tj. 68,44 lat vs 64,45 lat w grupie kontrolnej; $p=0,02$ i posiadali istotnie więcej chorób współistniejących 91,0% vs 82,3%; $p=0,007$.

Kohortę podzielono na dwie grupy: 142 (32,2%) pacjentów, u których objawy GI wystąpiły przed przyjęciem do szpitala oraz 113 (25,62%) pacjentów, u których wystąpiły podczas hospitalizacji.

W grupie 142 pacjentów (32,2%), u których objawy GI wystąpiły przed przyjęciem do szpitala w porównaniu z pacjentami bez objawów GI, zaobserwowano istotne statystycznie zmniejszenie długości pobytu (LOS), tj. 15 dni vs. 17 dni; $p=0,04$; zmniejszenie częstości pobytów na Oddziale Intensywnej Terapii (ICU) tj. 16,9% vs 26,8%; $p=0,02$ i mniejsze ryzyko konieczności zastosowania wentylacji mechanicznej 14,1% vs 23,4%; $p=0,02$. Nie stwierdzono istotności statystycznej w zakresie śmiertelności w grupie pacjentów z objawami GI przed przyjęciem do szpitala, tj. 53 (37,3%) vs u bezobjawowych tj. 95 (31,8%); $p=0,24$. Rozkład płci, wiek, choroby współistniejące, stosowanie inhibitorów pompy protonowej (PPI), częstość infekcji *Clostridioides difficile* (CDI) nie były czynnikiem ryzyka wystąpienia objawów ze strony przewodu pokarmowego przed hospitalizacją. W grupie pacjentów z objawami GI przed przyjęciem do szpitala najczęstszym objawem był brak apetytu u 84 (19,9%), następnie kolejno ból brzucha u 70 (15,9%), biegunka u 60 (13,6%), wymioty u 11 (2,5%) i nudności u 10 (2,2%) pacjentów.

113 (25,62%) pacjentów, u których podczas pobytu w szpitalu wystąpiły objawy GI (w porównaniu z pacjentami bez objawów) miało statystycznie istotnie dłuższy LOS, tj. 21 dni vs. 15 dni; $p=0,0001$, częściej wymagali pobytu na ICU, tj. 38,1% vs 18,6%; $p=0,0003$, częściej wymagali zastosowania wentylacji mechanicznej, tj. 32,7% vs 16,2%; $p<0,001$ oraz o wiele częściej chorowali na CDI, tj. 22,1% vs 7,0%; $p=0,0001$. Nie odnotowano znamienności statystycznej w zakresie śmiertelności wśród pacjentów z objawami GI podczas pobytu vs. grupy bezobjawowej, tj. odpowiednio 46 (40,1%) vs 102 (31,1%); $p=0,06$. Wiek, częstość CDI, niektóre leki stosowane w leczeniu COVID-19 (antybiotyki, azytromycyna, antybiotyki inne niż azytromycyna oraz lopinawir + rytonawir) były czynnikami ryzyka wystąpienia objawów GI podczas hospitalizacji. Płeć, choroby współistniejące, PPI i stosowanie chlorochiny nie były czynnikami ryzyka wystąpienia objawów ze strony przewodu pokarmowego podczas

hospitalizacji. W grupie pacjentów z GI podczas hospitalizacji najczęstszym objawem była biegunka – obecna w 49 (11,1%) przypadkach, następnie kolejno brak apetytu u 40 (9,1%), wymioty u 26 (5,9%), ból brzucha u 25 (5,7%) oraz nudności u 22 (5,0%) pacjentów.

Zadziwiająco, pomimo izolacji chorych i stosowania sprzętu ochronnego przez personel medycznego u 48 (10,9%) pacjentów stwierdzono infekcję *Clostridioides difficile*. Wiek, czas hospitalizacji, leczenie antybiotykami innymi niż azytromycyna, niektóre choroby współistniejące (choroby sercowo-naczyniowe, przewlekła choroba nerek i choroby układu nerwowego) oraz wystąpienie objawów brzusznych podczas hospitalizacji stanowiły czynniki ryzyka CDI. Wszystkie zmienne miały istotny, ale słaby efekt (Cramer $V=0,1-0,3$). Antybiotyki stosowano w leczeniu aż u 354 pacjentów (80,3%) z COVID-19, w tym 42 (87,5%) z CDI i 312 (79,4%) bez CDI ($V=0,06$; $p=0,18$). Nie zaobserwowano znamienności statystycznej w przypadku stosowania azytromycyny – zastosowano ją łącznie u 214 pacjentów (48,5%), w tym 28 (58,3%) z CDI i 186 (47,3%) bez CDI ($V=0,07$; $p=0,15$). U 300 chorych (68%) podawano antybiotyki inne niż azytromycyna – częściej u osób z CDI (39 [81,3%]), niż bez CDI (261 [66,4%]), ($V=0,1$; $p=0,037$).

Odnotowano niemal dwukrotny wzrost zużycia antybiotyków, definiowany jako dobowe spożycie antybiotyków na 100 osobodni hospitalizacji z 57,2 przed pandemią do 105 w czasie pandemii. Ze względu na brak danych na temat działania leków stosowanych w COVID-19 zbadano również wpływ chlorochiny i lopinawiru + ritonawiru, które w początkowym okresie pandemii były rekomendowane przez Polskie Towarzystwo Epidemiologów i Lekarzy Chorób Zakaźnych, nie wykazując ich związku z CDI.

Parametry, które różniły się między pacjentami z COVID-19 oraz z CDI a pacjentami bez CDI, zostały uwzględnione jako predyktory w wieloczynnikowym modelu regresji logistycznej, gdzie obecność CDI potraktowano jako zmienną wyniku. Istotnymi zmiennymi w modelu były czas hospitalizacji ($p=0,01$), pobyt na Oddziale Intensywnej Terapii (ICU) ($p=0,006$) oraz wystąpienie objawów brzusznych podczas hospitalizacji ($p=0,001$). Wydłużenie czasu hospitalizacji o jedną dobę zwiększało ryzyko CDI aż o 3% (OR 1,03; 95% CI 1,01–1,05). Interesujący pozostawał fakt, że u pacjentów przebywających na ICU ryzyko CDI było o 76% niższe (OR 0,24; 95% CI 0,08–0,61), ale 3,4-krotnie wyższe u pacjentów z objawami brzuszными podczas

hospitalizacji (OR 3,38; 95% CI 1,71– 6.72). Pozostałe zmienne były nieistotne w modelu. Ocena modelu za pomocą testu χ^2 potwierdziła, że wszystkie zmienne łącznie były istotne ($p=0,001$). Współczynnik R^2 Nagelkerke był niski (22%), co wskazywało na obecność innych nieoceniających zmiennych, które miały wpływ na częstość występowania CDI u pacjentów z zakażeniem SARS-CoV-2. Dodatkowa ocena testem dopasowania Hosmera–Lemeshowa ($p=0,13$) potwierdziła dobre dopasowanie modelu do danych.

Podczas pandemii COVID-19 w porównaniu do okresu sprzed jej początku nastąpił istotny wzrost częstości występowania CDI: 10,9% (48 przypadków CDI wśród 441 pacjentów) w porównaniu z 2,6% (77 przypadków CDI wśród 2961 pacjentów); $p<0,0001$. Porównanie częstości występowania CDI przed i podczas pandemii COVID-19 wykazało istotny związek pomiędzy występowaniem zakażenia SARS-CoV-2 a płcią, stosowaniem antybiotyków, występowaniem przewlekłej choroby nerek oraz występowaniem chorób układu nerwowego u pacjentów z CDI. Mężczyźni z zakażeniem SARS-CoV-2 byli częściej dotknięci CDI niż przed pandemią (45,8% vs 28,6%; $V=0,18$; $p=0,049$). Antybiotyki przyjmowało 87,5% pacjentów z CDI zakażonych SARS-CoV-2 w porównaniu z 67,5% pacjentów z CDI przed pandemią ($V=0,22$; $p=0,012$). Nie stwierdzono istotnych różnic pod względem wieku, czasu hospitalizacji i częstości stosowania inhibitora pompy protonowej (PPI) między pacjentami zakażonymi SARS-CoV-2 z CDI a leczonymi przed pandemią. Przewlekła choroba nerek i choroba układu nerwowego występowały częściej u pacjentów z CDI zakażonych SARS-CoV-2 niż u tych z CDI przed pandemią. Jednocześnie wykazano silniejszy wpływ choroby układu nerwowego (31,3% vs 15,6%; $V=0,19$; $p=0,038$) niż przewlekłej choroby nerek (11,7% vs 39,6%; $V=0,33$; $p<0,001$). Nie potwierdzono istotnego związku między CDI u pacjentów z zakażeniem SARS-CoV-2 a chorymi na CDI przed pandemią w zakresie innych chorób współistniejących.

Podsumowanie i wnioski:

Objawy GI w przebiegu COVID-19, które pojawiły się przed przyjęciem do szpitala, korelują z łagodniejszym przebiegiem choroby. Odwrotnie objawy GI, które pojawiły się podczas hospitalizacji, korelują z cięższym przebiegiem COVID-19. Niektóre leki jak antybiotyki i lopinawir + rytonawir istotnie korelowały z objawami podczas hospitalizacji i pogorszeniem przebiegu choroby. Korelacja nie oznacza

jednak związku przyczynowego, co z pewnością wymaga dalszych badań i może stać się użyteczne w stratyfikacji ciężkości przebiegu pacjentów z COVID-19. Włączenie objawów ze strony przewodu pokarmowego (szczególnie w aspekcie czasu ich wystąpienia) do modeli predykcyjnych choroby wydaje się obiecujące. W grupie pacjentów, u których podczas pobytu rozwijają się objawy żołądkowo-jelitowe, należy zwrócić uwagę na leczenie towarzyszące.

Ponadto w badaniu stwierdzono istotny wzrost częstości występowania CDI wśród hospitalizowanych pacjentów podczas pandemii w porównaniu z okresem przed pandemią. Powszechne stosowanie antybiotyków stanowiło istotny czynnik ryzyka CDI. Związane z leczeniem bądź z samą infekcją SARS-CoV-2 zaburzenia mikrobioty jelitowej mogą być wyjaśnieniem zwiększonej częstotliwości występowania CDI. W związku z istotnym wzrostem zachorowalności na CDI, potrzebne są rygorystyczne programy zarządzania antybiotykami i dalsze badania nad zmianami mikrobiomu jelitowego w COVID-19. Pojawienie się objawów GI podczas hospitalizacji może być istotnym sygnałem rozwoju CDI. Klinicyści powinni być świadomi ryzyka koinfekcji i zachować czujność — przestrzeganie protokołów przesiewowych badań w kierunku CDI podczas pandemii ma kluczowe znaczenie.

Główne wnioski z badania:

1. Objawy brzuszne to częsta manifestacja COVID-19, która występowała u 57,8% pacjentów.
2. U pacjentów z COVID-19, u których objawy brzuszne wystąpiły przed przyjęciem do szpitala przebieg choroby był łagodniejszy, w porównaniu do pacjentów, u których objawy te wystąpiły podczas hospitalizacji. Kluczowym wydaje się być stosowanie niektórych leków, w szczególności antybiotyków, których stosowanie powinno być ograniczone.
3. U 10,9% pacjentów stwierdzono infekcję *Clostridioides difficile*, dla której głównym czynnikiem ryzyka było powszechne stosowanie antybiotyków. Nie stwierdzono, aby inne leki stosowane w COVID-19 miały istotny wpływ na rozwój choroby.

5. Streszczenie w języku angielskim:

“Impact of gastrointestinal symptoms on the clinical course of SARS-CoV-2 infection”

Aim:

The main aim of the study was to determine the frequency of gastrointestinal (GI) symptoms (defined as abdominal pain, diarrhea, nausea, vomiting and loss of appetite) among 441 patients hospitalized for COVID-19. The influence of GI symptoms on the course of COVID-19 was examined, taking into consideration the time of their occurrence and their possible relationship with drugs used in the treatment of SARS-CoV-2.

Patients and methods:

It is a single-center, retrospective study, which included 441 patients, 18 years of age and older with confirmed SARS-CoV-2 infection, hospitalized from March 15th to June 15th, 2020 at the Central Clinical Hospital of the Ministry of the Interior and Administration. The diagnosis was made on the basis of the applicable standard, i.e. a positive result of the reverse transcriptase test – polymerase chain reaction (target genes: RdRp, E and N) for SARS-CoV-2 in nasopharyngeal swabs.

Results:

Among 441 hospitalized COVID-19 patients, 255 (57,8%) had GI symptoms. The most common symptom was lack of appetite, which was reported in 124 (48,6%) cases. Other GI symptoms such as diarrhea were observed in 109 (42,7%), abdominal pain in 95 (37,3%), vomiting in 37 (14,5%) and nausea in 32 (12,5%) patients. The gender distribution was similar in both groups, 49,4% of women in the group with GI symptoms (research group) vs. 48,4% in the group without GI symptoms (control group); $p=0,083$. Patients with GI symptoms were significantly older, i.e. 68,44 years vs. 64,45 years in the control group; $p=0.02$ and had significantly more comorbidities 91,0% vs 82,3%; $p=0,007$.

The cohort was divided into two groups: 142 (32,2%) patients who experienced GI symptoms before admission to hospital and 113 (25,62%) patients who experienced GI symptoms during hospitalization.

In the group of 142 patients (32,2%) who experienced GI symptoms before admission to the hospital versus patients without GI symptoms, a statistically significant reduction in the length of stay (LOS) was observed, i.e. 15 days vs. 17 days; $p=0,04$, reduction in the frequency of stays in the Intensive Care Unit, i.e. 16,9% vs 26,8%; $p=0.02$ and lower demand for mechanical ventilation 14,1% vs 23,4%; $p=0,02$. No statistical significance was found for mortality among patients with GI symptoms before admission to hospital, i.e. 53 (37,3%) vs in asymptomatic patients, i.e. 95 (31,8%); $p=0,24$. Sex distribution, age, comorbidities, used proton pump inhibitors (PPI), CDI incidence were not a risk factor for GI symptoms before hospitalization. In the group of patients with GI symptoms before admission to the hospital, the most common symptom was lack of appetite in 84 (19,9%), followed by abdominal pain in 70 (15,9%), diarrhea in 60 (13,6%), vomiting in 11 (2,5%) and nausea in 10 (2,2%) cases.

113 (25,62%) patients who experienced GI symptoms during their stay in hospital (compared to patients without symptoms) had a statistically significantly longer duration of hospital stay (LOS), i.e. 21 days vs 15 days; $p=0,0001$, more frequent visits to the Intensive Care Unit, i.e. 38,1% vs 18,6%; $p=0,0003$, greater need for mechanical ventilation, i.e. 32,7% vs 16,2%; $p<0,001$ and more frequent occurrence of CDI, i.e. 22,1% vs 7,0%; $p=0,0001$. Mortality was not statistically significant among patients with gastrointestinal symptoms during the stay vs. the asymptomatic group, i.e. 46 (40,1%) vs 102 (31,1%), respectively; $p=0,06$. Age, CDI frequency, some specific drugs used in the treatment of COVID-19 (antibiotics, azithromycin, antibiotics other than azithromycin and lopinavir + ritonavir) were risk factors for gastrointestinal symptoms during hospitalization. Gender, comorbidities, PPI, and chloroquine use were not risk factors for GI symptoms during hospitalization. In the group of patients with gastrointestinal symptoms during hospitalization, the most common was diarrhea - present in 49 (11,1%) cases, followed by lack of appetite in 40 (9,1%), vomiting in 26 (5,9%), abdominal pain in 25 (5,7%) and nausea in 22 (5,0%).

Of 441 patients hospitalized for COVID-19, 48 patients (10,9%) developed *Clostridioides difficile* infection. Age, hospitalization time, treatment with antibiotics other than azithromycin, certain comorbidities (cardiovascular disease, chronic kidney disease, and nervous system disease), and the appearance of abdominal symptoms during hospitalization were all risk factors for CDI. All variables had a significant but weak effect (Cramer $V=0,1-0,3$). Antibiotics were used to treat 354 patients (80,3%)

with COVID-19, including 42 (87,5%) with CDI and 312 (79,4%) without CDI ($V=0,06$, $p=0,18$). Surprisingly, no statistical significance was observed for the use of azithromycin - it was used in a total of 214 patients (48,5%), including 28 (58,3%) with CDI and 186 (47,3%) without CDI ($V=0,07$, $p=0,15$). In 300 patients (68%), antibiotics other than azithromycin were administered - more often in patients with CDI (39 [81,3%]) than without CDI (261 [66,4%]), ($V=0,1$; $p=0,037$). There was an increase in antibiotic use, defined as daily antibiotic consumption per 100 person per days of hospitalization, from 57,2 before the pandemic to 105 during the pandemic. Due to the lack of data on the effects of drugs used in COVID-19, the effects of chloroquine and lopinavir + ritonavir were also tested, which in the initial period of the pandemic were recommended by the Polish Society of Epidemiologists and Doctors of Infectious Diseases, and I have proved that they did not affect the development of CDI.

Parameters that differed between COVID-19 patients with CDI and patients without CDI were included as predictors in the multivariate logistic regression model with CDI as the outcome variable. Significant variables in the model were hospitalization time ($p=0,01$), stay in the intensive care unit (ICU) ($p=0,006$), and occurrence of abdominal symptoms during hospitalization ($p=0,001$). One day prolongation of hospitalization increased the risk of CDI by 3% (OR 1,03; 95% CI 1,01–1,05). Surprisingly, in ICU patients the CDI risk was 76% lower (OR 0,24; 95% CI 0,08–0,61), and 3,4 times higher in patients with abdominal symptoms during hospitalization (OR 3,38; 95% CI 1,71–6,72). The other variables were irrelevant in the model. The evaluation of the model using the chi² test confirmed that all variables were significant together ($p=0,001$). Nagelkerke's R² ratio was low (22%), indicating the presence of other unassessed variables that influenced the incidence of CDI in patients with SARS-CoV-2 infection. Additional evaluation with the Hosmer-Lemeshow fit test ($p=0,13$) confirmed the good fit of the model to the data.

During the COVID-19 pandemic, compared to the pre-pandemic period, the incidence of CDI increased significantly: 10,9% (48 CDI cases out of 441 patients) versus 2,6% (77 CDI cases out of 2,961 patients); $p<0,0001$. Comparison of the incidence of CDI before and during the COVID-19 pandemic showed a significant relationship between the incidence of SARS-CoV-2 infection and gender, the use of antibiotics, the incidence of chronic kidney disease, and the incidence of nervous system disease in patients with CDI. Men with SARS-CoV-2 infection were more likely to suffer from CDI than before the pandemic (45,8% vs 28,6%; $V=0,18$; $p=0,049$).

Antibiotics were taken by 87,5% of CDI patients infected with SARS-CoV-2 compared with 67,5% of CDI patients before the pandemic ($V=0,22$; $p=0,012$). There were no significant differences in age, hospitalization time, and frequency of proton pump inhibitor (PPI) use between SARS-CoV-2 infected patients with CDI and those treated before the pandemic. Chronic kidney and nervous system disease was more common in CDI patients infected with SARS-CoV-2 than in CDI patients before the pandemic, with a stronger impact on nervous system disease (31,3% vs 15,6%) $V=0,19$; $p=0,038$ for chronic kidney disease and 11,7% vs 39,6%; $V=0,33$; $p<0,001$ for diseases of the nervous system). A significant association between CDI in patients with SARS-CoV-2 infection and patients with CDI prior to the pandemic of other comorbidities has not been established.

Summary and Conclusions:

Symptoms of GI during COVID-19 that appeared before admission to the hospital correlate with a reduced severity of the disease. Conversely, GI symptoms that appear during hospitalization correlate with a more severe course of COVID-19. Certain drugs, such as antibiotics and lopinavir-ritonavir, significantly correlated with symptoms during hospitalization and with disease worsening. Given that this correlation is not a causal relationship, this requires further research and may be useful in stratifying the severity of COVID-19 patients. However, the inclusion of gastrointestinal symptoms (before and during hospitalization) in disease severity prediction models appears to be promising. However, in the group of patients who develop gastrointestinal symptoms during their stay, attention should be paid to concomitant treatment.

The study found a significant increase in the incidence of CDI among hospitalized patients during the pandemic compared to the pre-pandemic period. The widespread use of antibiotics was a significant risk factor for CDI, although its effect was weak. Treatment-related or SARS-CoV-2 infection related disturbances of the gut microbiota may explain the increased incidence of CDI. As the incidence of CDI is rising significantly, stringent antibiotic management programs and further research into changes in the gut microbiome to COVID-19 are needed. The appearance of GI symptoms during hospitalization may be a significant signal of the development of CDI. Clinicians should be aware of the risks of co-infection and be vigilant - adherence to CDI screening protocols during a pandemic is of utmost importance.

The main conclusions of the study:

1. Abdominal symptoms are a frequent manifestation of COVID-19, they occurred in 57,8% of patients with SARS-CoV-2 infection.
2. Patients with COVID-19 who developed abdominal symptoms before admission to the hospital had a milder course of the disease compared to patients who developed these symptoms during hospitalization. The use of certain medications, in particular antibiotics, seems to be of key importance, and should be limited as they are associated with worsening of COVID-19; one of the reasons may be changes in the gut microbiome.
3. Clostridioides difficile infection was diagnosed in 10,9% of patients, for which the use of antibiotics was the main risk factor. Other drugs used in COVID-19 have not been found to influence the development of the disease. Disturbances in the gut microbiota caused by the extensive use of antibiotics may have contributed to the increased incidence of CDI.

6. Wstęp

6.1. SARS-CoV-2 i choroba COVID-19.

Koronawirus zespołu ciężkiej ostrej niewydolności oddechowej 2 (SARS-CoV-2) to wysoce zakaźny patogen, który pojawił się pod koniec 2019 r. i spowodował pandemię ostrej choroby układu oddechowego o nazwie choroba koronawirusowa 2019 (COVID-19), która zagroziła ludzkości na całym świecie [1].

Koronawirusy należą do zróżnicowanej grupy wirusów infekujących wiele różnych zwierząt i ludzi, powodują infekcję układu oddechowego, która może mieć ciężki, a nawet zagrażający życiu przebieg. W latach 2002 i 2012, dwa wysoko patogenne koronawirusy pochodzenia odzwierzęcego, koronawirus zespołu ostrej niewydolności oddechowej (SARS-CoV) i koronawirus zespołu oddechowego Bliskiego Wschodu (MERS-CoV) pojawiły się u ludzi i powodowały śmiertelną chorobę układu oddechowego [2]. Od tamtego momentu koronawirusy stały się nowym problemem zdrowotnym XXI wieku.

Pod koniec 2019 r. w mieście Wuhan w Chinach pojawił się nowy koronawirus oznaczony jako SARS-CoV-2, który powodował zapalenia płuc, czasem prowadzące do ciężkiej niewydolności oddechowej i zgonu. Choroba koronawirusowa 2019 (COVID-19), będąca wysoce zakaźną, szybko rozprzestrzeniła się na całym świecie. Zdecydowanie przewyższyła ilościowo SARS i MERS zarówno pod względem liczby zarażonych osób, jak i zasięgu przestrzennego obszarów epidemicznych. Trwająca pandemia COVID-19 stanowi nadzwyczajne zagrożenie dla zdrowia publicznego na świecie.

Postępowanie diagnostyczne polega na stwierdzeniu obecności kwasu rybonukleinowego (RNA) SARS-CoV-2 w reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym (RT-PCR), który może zostać wykonany na podstawie wymazu nosowo – gardłowego. Tańszą i szybszą w wykonaniu alternatywą mogą być testy antygenowe. Możliwe jest również wykonanie badania diagnostycznego z próbki krwi, czyli przy użyciu przeciwciał w surowicy krwi, jednak ta metoda daje fałszywe pozytywne wyniki, nawet jeśli wirus nie jest już obecny w organizmie [3].

COVID-19 to choroba układu oddechowego o szerokim spektrum objawów. Choroba przebiega w różny sposób, w 81% jest on łagodny, w 14% ciężki, a u 5% chorych krytyczny. Do najczęstszych objawów należy: gorączka (83–99%), kaszel

(59–82%) i zmęczenie (44–70%) [4-6]. Możliwe sposoby transmisji SARS-CoV-2 to kontakt bezpośredni, kropelkowy, przenoszony drogą powietrzną fekalno – oralny, przenoszony przez krew, z matki na dziecko oraz ze zwierzęcia na człowieka [6]. Zakażenie SARS-CoV-2 powoduje przede wszystkim chorobę układu oddechowego, jednakże u niektórych osób zakażonych wirusem objawy nigdy nie występują. Objawy żołądkowo-jelitowe, takie jak nudności, wymioty, biegunka i ból brzucha, zostały uznane za ważne i częste objawy COVID-19 [2,4-6].

Do innych objawów występujących w COVID-19 należą:

1. Utrata zapachu lub smaku. Utrata węchu lub smaku – bez uczucia zatkanego nosa – jest częstym wczesnym objawem COVID-19. Badania sugerują, że większość zmian w zapachu i smaku często ustępuje w ciągu 30 dni. Jednak u niektórych osób umiarkowane lub poważne zmiany w zapachu i smaku mogą utrzymywać się przez 60 dni lub dłużej.
2. Zmiany skórne. Najczęstsze zmiany skórne związane z łagodnym do ciężkiego COVID-19 obejmują płaską, czerwoną wysypkę pokrytą małymi guzkami, głównie na palcach rąk i nóg („palce COVID”) oraz pokrzywkę. „Palce COVID” wydają się być szczególnie częste u dzieci i młodszych dorosłych. Obrzęk lub przebarwienia mogą pojawić się na jednym lub kilku palcach. Mogą również wystąpić pęcherze, swędzenie, szorstkość skóry, ból lub bolesne wypukłe guzki. Pod skórą może pojawić się niewielka ilość ropy. Objawy mogą trwać od 10 do 14 dni lub dłużej, nawet do kilku miesięcy.
3. Jakościowe zaburzenia świadomości. Szczególnie często występuje u osób w wieku podeszłym, gdzie nierzadko pozostają jednym objawem, który wiązany jest z wyjątkowo złym rokowaniem.
4. Zaburzenia narządu wzroku. Zaczerwienienie oka, jako wyraz zapalenie spojówek może być objawem COVID-19. Badania sugerują, że najczęstsze problemy z oczami związane z COVID-19 to nadwrażliwość na światło, ból i swędzenie oczu [7].

Nie ma swoistego leczenia przeciwwirusowego, szczepienie przeciwko COVID-19 pozostaje kluczowe w aspekcie zapobiegania ciężkiej chorobie. Leczenie ma charakter objawowy, a tlenoterapia jest pierwszym krokiem w leczeniu niewydolności oddechowej. Lekami, które początkowo stosowano w leczeniu COVID-19, były chlorochina, hydroksychlorochina, azytromycyna oraz lopinawir + ritonawir. Zalecane

jest również stosowanie antykoagulantów w celu zapobiegania powikłaniom zakrzepowo - zatorowym. Inhibitory pewnych szlaków zapalnych, takie jak tocilizumab, anakinra i acalabrutinib, wydają się być skuteczne. Obecnie dwa leki są zarejestrowane do stosowania u pacjentów z COVID-19 w leczeniu ambulatoryjnym. Molnupirawir to inhibitor wirusowej polimerazy RNA (wirostatyk, hamuje replikację wirusa SARS-CoV-2). Podawany jest w postaci proleku metabolizowanego do analogu cytydyny (analog nukleozydowy), ale jego działanie jest ograniczone do początkowej fazy COVID-19, kiedy to występuje intensywne replikacja SARS-CoV-2 [8]. Drugi lek, Paxlovid, zawiera dwie substancje czynne: PF-07321332 i rytonawir. Ta pierwsza to inhibitor głównej proteazy Mpro SARS-CoV-2, enzymu niezbędnego do replikacji. Podobnie działa rytonawir, który jest starszym lekiem stosowanym przy zakażeniach wirusem HIV. Oba leki znacząco zmniejszają ryzyko ciężkiego przebiegu choroby i co za tym idzie hospitalizacji lub śmierci, jeśli zostaną podane w ciągu kilku dni od wystąpienia pierwszych objawów COVID-19 [9]. Ponadto obiecujące wydaje się zastosowanie przeciwciał pobranych z krwi wyleczonych osób [10]. W przypadku pacjentów z objawami dysfunkcji wielonarządowej (MOD) z oporną hipoksemią konieczna może być pozaustrojowa oksygenacja krwi (ECMO) [11].

6.2 Etiopatogeneza objawów brzusznych w COVID-19.

6.2.1. Receptor konwertazy angiotensyny 2 (ACE2).

SARS-CoV-2 jest wirusem otoczkowym zawierającym genom pod postacią nici RNA. Jak podaje Zhou i wsp. SARS-CoV-2 jest w 90% zbliżony budową do SARS-CoV. Oba wirusy wykorzystują enzym konwertujący angiotensynę 2 (ACE2) jako receptor wejścia do komórki gospodarza [12].

Koronawirusy posiadają cztery białka strukturalne: otoczkę, błonę, nukleokapsyd oraz kolce. Białko kolczaste tworzy duże wypustki na powierzchni wirusa, dając wygląd korony i stąd pochodzi ich nazwa. Wrap i wsp. udokumentowali, że SARS-CoV-2 ma ~10 do 20-krotnie wyższe powinowactwo do ACE2 w porównaniu z SARS-CoV, co może tłumaczyć przyczynę większej zakaźności [13].

Xiao i wsp. udowodnili, że ACE2 występuje na wielu komórkach przewodu pokarmowego m. in. na powierzchni komórek nabłonka przełyku, błony śluzowej żołądka, enterocytach i kolonocytach [14]. Gu i wsp. oraz Chai i wsp. postulowali

również możliwość uszkodzenia wątroby związanego z obecnością ACE2 na cholangiocytach [15,16].

Zou i wsp. powiązali ekspresję ACE2 w różnych narządach z ich potencjalnym ryzykiem zakażenia SARS-CoV-2. Tkanki wysokiego ryzyka zdefiniowano jako zawierające typy komórek z udziałem >1% ekspresji ACE2 i zaliczono do tej kategorii: dolne drogi oddechowe (2%), płuca (>1%), serce (>7,5%), jelito kręte (30 %), przełyk (>1%), nerki (4%) i pęcherz (2,4%) [17]. W publikacji Luo i wsp. oraz Gu i wsp. przedstawiono, że izolowane objawy brzuszne u 10% pacjentów zakażonych SARS-CoV-2 mogą poprzedzać typowy obraz COVID-19 [15,18]. Może być to związane z faktem, że receptor występuje w nawet większej ilości w przewodzie pokarmowym, aniżeli w tkankach układu oddechowego, co zostało przedstawione w pracach Harmer i wsp., Monteleone i wsp. oraz Du i wsp. [19-21].

Zhou i wsp., którzy odkryli, że SARS-CoV-2 ma wysokie powinowactwo do ACE2 oraz, że nie infekuje, tych komórek, które nie wykazują jego ekspresji [12]. Wyniki kolejnych badań m. in. Huang i wsp. oraz Hoffmann i wsp. wskazywały również na kluczową rolę transbłonowej proteazy serynowej (TMPRSS), która lokalizuje się w większości przypadków na tych samych komórkach, które wykazują wysoka ekspresję ACE2 [22,23]. TMPRSS, podobnie jak ACE2 oddziałuje z wirusową transbłonową glikoproteiną kolców (białko S) regulując cięcie białka S i powodując fuzję błony SARS-CoV-2 z komórką gospodarza [23].

W badaniach histopatologicznych, pobranych podczas badań endoskopowych u pacjentów zakażonych SARS-CoV-2 Livanos i wsp. nie stwierdzili istotnych odchyłań, z wyjątkiem obecnych sporadycznie w badaniu histopatologicznym nacieków limfo – plazmatycznych związanych z obrzękiem śródmiąższowym błony śluzowej przełyku, żołądka, dwunastnicy, jelita cienkiego i jelita grubego. Jednak barwienia immunofluorescencyjne wykazywały ekspresję wirusowego białka nukleokapsydu i ACE2, co potwierdza obecność wirusa w badanych tkankach [24].

Mając na uwadze fakt, że wirus atakuje komórki z wysoką ekspresją ACE2 obecne w przewodzie pokarmowym powstaje pytanie na temat patofizjologicznego podłoża objawów brzusznych w COVID-19. Zhou i wsp. sugerowali, że są one spowodowane zaburzeniami osi jelito – mózg. Hipotetyzowali, że obecny w komórkach przewodu pokarmowego SARS-CoV-2 indukując ich apoptozę, powoduje zwiększenie przepuszczalności bariery jelitowej, co może prowadzić do zwiększonej ekspozycji ośrodkowego układu nerwowego na szkodliwe metabolity syntetyzowane w świetle jelit

[12]. Inne wyjaśnienie postulowane przez Gu i wsp. podaje, że występowanie objawów brzusznych może wiązać się z upośledzeniem homeostazy jelitowej, co wiąże się ze zmniejszeniem ekspresji ACE2 [15]. Podobnie jak ma to miejsce w układzie oddechowym, gdzie zmniejszenie ekspresji ACE2 w płucach, wydaje się pośredniczyć w uszkodzeniu tkanek.

W celu lepszego zrozumienia działania SARS-CoV-2 w jelitach warto zwrócić uwagę na badanie przeprowadzone u pacjentów z nieswoistymi chorobami zapalnymi jelit (IBD), w których również może dochodzi do zmniejszenia ekspresji ACE2. Krzysztof i wsp. wykazali, że ekspresja ACE2 w zapaleniu dystalnego odcinka jelita krętego w przebiegu choroby Leśniowskiego - Crohna była o 60% niższa niż u osób zdrowych [25]. Podobne wyniki przedstawił Burgueno i wsp., którzy badali pacjentów z IBD i potwierdzili, że ACE2 i TMPRSS2 ulegały obfitej ekspresji w jelicie krętym i okrężnicy. Jednak zapalenie koreluje ze znaczną redukcją nabłonkowego ACE2 [26].

Funkcja pełniona przez ACE2 w przewodzie pokarmowym nadal nie jest do końca poznana i z pewnością wymaga dalszych badań. Z dotychczasowych przeprowadzonych badań jak podaje Hashimoto i wsp. wynika, że ACE2 reguluje homeostazę jelitową aminokwasów, moduluje mikrobiotę jelitową i wpływa na ekspresję peptydów przeciwdrobnoustrojowych [27]. Upośledzenie tej regulacji może zatem powodować pojawienie się objawów brzusznych.

6.2.2. Burza cytokinowa.

Termin zespół uwalniania cytokin (CRS), bardziej znany jako burza cytokin, jest używany do opisanego nieprawidłowego i/lub nadmiernego wydzielania mediatorów wtórnego do związanego z nim zdarzenia immunopatologicznego, które występuje w trakcie ciężkich zakażeń bakteryjnych i wirusowych. CRS wiąże się z nadmierną odpowiedzią prozapalną i nieskutecznym mechanizmem kontroli przez układ przeciwzapalny, prowadzącym do uszkodzenia tkanek [28].

Ludzki układ odpornościowy odgrywa zasadniczą rolę w eliminacji czynników zakaźnych, takich jak grypa i koronawirusy, poprzez rekrutację leukocytów i uwalnianie cytokin. Ograniczona i dobrze zharmonizowana stymulacja odpowiedzi immunologicznych jest zwykle pierwszym mechanizmem działania organizmu, który buduje obronę przed jakąkolwiek infekcją wirusową [29]. Niemniej jednak nieuregulowane i nadmiernie nasiloną odpowiedź immunologiczną mogą zmieniać

funkcję immunologiczną, prowadząc do uszkodzenia tkanek i niewydolności wielu narządów.

Gu i wsp. postulował, że wytwarzanie różnych cytokin, które powodują burze cytokinową u pacjentów z SARS-CoV-2, powoduje urazy immunopatogenne. Dlatego skuteczne obniżenie poziomu cytokin prozapalnych u pacjentów z ciężkim COVID-19 ma kluczowe znaczenie w zapobieganiu dalszemu pogorszeniu stanu ich zdrowia [30].

Hojyo i wsp. potwierdzili, że w trakcie infekcji SARS-CoV-2 dochodzi do aktywacji komórek nabłonka pęcherzyków płucnych, makrofagów i krążących we krwi monocytów przez receptory Toll-like, które należą do grupy receptorów rozpoznających wzorce (PRR). Dzięki pamięci immunologicznej rozpoznają zagrożenie i następnie wytwarzają dużą ilość zapalnych cytokin i chemokin, które przyciągają jeszcze więcej komórek odpornościowych, w szczególności monocytów i limfocytów T, powodując tym samym masowne zapalenie płuc [31]. Xu i wsp. przedstawili wyniki sekcji zwłok pacjentów z COVID-19, w których stwierdzono w płucach śródmiąższowe jednojądrzaste nacieki zapalne zdominowane przez limfocyty oraz ciężką limfopenię we krwi obwodowej [32]. Co więcej Qin i wsp. przedstawili, że pacjenci z COVID-19 mają również niższy poziom regulatorowych limfocytów T, które są wyraźniej obniżone w przypadkach ciężkich zakażeń [33]. Huang i wsp. udowodnili, że pacjenci hospitalizowani z powodu ciężkiego przebiegu COVID-19 wykazywali wysokie stężenie cytokin prozapalnych tj. IL-2, IL-7, IL-10, IL-18, G-CSF, TNF, CXCL10, MCP1 i MIP1 α w surowicy, co potwierdza, że COVID-19 może być związany ze zjawiskiem burzy cytokinowej [34].

Odkrycia te doprowadziły do hipotezy, że główną przyczyną śmierci COVID-19 jest wynikający z burzy cytokinowej zespół ostrej niewydolności oddechowej (ARDS). Merad i wsp. oraz Levi i wsp. zauważyli, że wykrzepianie wewnątrznaczyniowe (DIC) było jedną z przyczyn uszkodzeń wielonarządowych, w których pośredniczą głównie cytokiny zapalne, w szczególności IL-6 [35,36]. Ponadto u pacjentów, u których stwierdzono niewydolność wielonarządową (MOD) stwierdzano również obecność licznych mikrozakrzepów zlokalizowanych w płucach, kończynach górnych i dolnych, mózgu, sercu, narządach przewodu pokarmowego i nerkach, co przedstawili w swoich badaniach Liu i wsp. oraz Tang i wsp. [37,38]. Park i wsp. jako inną przyczynę niewydolności wielonarządowej uznali apoptozę komórki indukowaną przez jej zakażenie SARS-CoV-2, co prowadzi do przecieku naczyniowego i indukuje efekt cytopatyczny [39].

Wydaje się zatem, że nasilenie choroby lub śmiertelność może również wynikać z burzy cytokin, w tym ARDS wywołanego wirusową infekcją płuc, która odpowiada za niewydolność wielonarządową. Nadmierne wydzielanie mediatorów zapalnych może prowadzić do nadmiernej przepuszczalności naczyń i stymulować komórki śródbłonna z ekspresją ACE2 w tętnicach i żyłach, które wraz z cząsteczkami wirusa powodują zapalenie ogólnoustrojowe.

6.2.3. Zaburzenia mikrobiomu jelitowego.

Zuo i wsp. zbadali mikrobiom jelitowy u pacjentów z SARS-CoV-2. U pacjentów z COVID-19 stwierdzono zwiększenie ilości bakterii oportunistycznych i zmniejszenie korzystnych komensali. Nawet po wyzdrowieniu pacjentów dysbioza utrzymywała się dalej. Znaczna ilość stwierdzonych bakterii oportunistycznych: rodzaju *Coprobacillus* oraz *Clostridium ramosum* i *Clostridium hathewayi* pozytywnie korelowała z ciężkością przebiegu COVID-19 [40].

W 2012 roku w Looft i wsp. na modelu mysim przedstawili, że usunięcie niektórych bakterii jelitowych po zastosowaniu antybiotyku prowadzi do zwiększonej podatności płuc na zakażenie wirusem grypy, co może potwierdzać związek dysbiozy z gorszym przebiegiem COVID-19 [41]. Istotny może pozostawać również wpływ niektórych drobnoustrojów na błonnik pokarmowy i jego metabolity. Trompette i wsp. potwierdzili, że dysbioza jelitowa wywołuje zmniejszenie stężenia krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SCFA), które wykazują protekcyjny wpływ w zapaleniu płuc [42].

Potwierdzając istotny związek infekcji płuc z mikrobiomem jelitowym, wykazano, że wiele probiotyków poprawia lub łagodzi stany chorobowe płuc. Te probiotyki działają poprzez modulację układu odpornościowego. Feleszko i wsp. wykazał na mysich modelach, że wprowadzenie bakterii probiotycznych, takich jak *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium lactis* i *Bifidobacterium breve*, może zmniejszać reakcję zapalną [43].

Ponieważ mikrobiota jelitowa podlega dynamicznym zmianom i być modulowana przez dietę, konieczne jest wdrożenie spersonalizowanych strategii żywieniowych jako uzupełnienia obecnych rutynowych terapii. Za zasadne wydaje się jej profilowanie poprzez interwencje pro- i prebiotyczną, co może to poprawić i przyspieszyć powrót do zdrowia u pacjentów.

6.2.4. Infekcja *Clostridioides difficile*.

Clostridioides difficile jest Gram-dodatnią, beztlenową i mającą zdolność tworzenia przetrwalników bakterią, którą po raz pierwszy zidentyfikowano w 1935 roku. Najczęstszą drogą transmisji jest droga fekalno – oralna. Na początku XXI wieku zaobserwowano wzrost zachorowalności na CDI z powodu szybko rozprzestrzeniającego się szczepu NAP1 (North American Pulse Field Type 1), inaczej znanego jako rybotyp 027 lub B1/NAP1/027. Szczep B1/NAP1/027 jest hiperwirulentny, charakteryzuje się zwiększoną zdolnością do tworzenia zarodników, wysoką opornością na fluorochinolony i o wiele częściej powoduje zakażenia o ciężkim przebiegu klinicznym [44].

CDI jest główną przyczyną biegunki związanej z antybiotykami. Odpowiada za 15–25% wszystkich przypadków, przy znacznym wzroście liczby przypadków w XXI wieku jak podaje Depestel i wsp. [45].

CDI są znacznie częstsze u pacjentów z czynnikami ryzyka, takimi jak: antybiotykoterapia, wiek powyżej 65 lat, hospitalizacja dłużej niż 4 tygodnie lub pobyt w placówce długoterminowej opieki medycznej, choroby współistniejące, choroby związane ze stosowaniem immunosupresji lub chemioterapii, stosowanie inhibitorów pompy protonowej. Do przewlekłych chorób i stanów, które należy rozpatrywać w aspekcie czynników ryzyka CDI należą: przewlekła choroba nerek, dializoterapia, mukowiscydoza, cukrzyca, udar, niedożywienie, alkoholizm, przewlekła niewydolność serca, przewlekła choroba płuc, pierwotne i wtórne zaburzenia odporności – w tym HIV, nowotwory i nieswoiste choroby zapalne jelit. Praktycznie każdy stosowany antybiotyk może być czynnikiem ryzyka rozwoju CDI [44].

Czynniki ryzyka ciężkiego przebiegu COVID-19 i CDI są podobne, należą do nich m. in. wiek powyżej 65 roku życia, pobyt w szpitalu oraz niektóre choroby współistniejące jak np. choroba nowotworowa czy obecny niedobór odporności [44,46]. W początkowym okresie pandemii nie stwierdzono badań dotyczących współwystępowania COVID-19 i CDI. W opublikowanym przez Sandhu i wsp. liście badawczym przedstawiono 9 przypadków CDI współwystępującego z COVID-19. Badacze przedstawili wzrost CDI z 3.32/10,000 pacjento-dnia w okresie przed pandemią do 3.6/10,000 pacjento-dnia w okresie COVID-19. Średnia wieku pacjentów wynosiła 75 lat, a w większości przypadków stosowano antybiotykoterapię. W podsumowaniu autorzy podkreślają znaczący wpływ podeszłego wieku pacjentów oraz

powszechne stosowanie antybiotyków, jako typowe czynniki ryzyka CDI wśród pacjentów hospitalizowanych z powodu COVID-19 [47].

Nasze odkrycie dot. zwiększenie częstości CDI u pacjentów z SARS-CoV-2 było jednym z pierwszych takich doniesień na świecie. W opublikowanym z podobnego okresu badaniu Ponce – Alonco i wsp. przedstawiano sprzeczne wyniki [48]. Natomiast Luo i wsp. wykazali podobną, jak w naszej pracy częstość występowania CDI wśród pacjentów z SARS-CoV-2 [49]. Za oczywiste należy przyjąć, że powszechne stosowanie koniecznych środków ochrony osobistej (fartuchów i rękawiczek), mogło przyczynić się do zmniejszenia transmisji i zmniejszenia zachorowalności na CDI. Z drugiej jednak strony należy przytoczyć wyniki badań przeprowadzonych przed pandemią przez Mitchell i wsp. oraz McDonald i wsp., które jednoznacznie nie potwierdziły wpływu poprawy jakości procedur sprzątnięcia szpitala lub izolacji chorych na zmniejszenie ilości CDI [50,51].

W retrospektywnej analizie kohorty z Nowego Jorku, opisanej przez Luo i wsp., stwierdzono tendencję do wyższej ilości wyników pozytywnych w kierunku CDI, pomimo wykonania mniejszej ilości testów w porównaniu z okresem sprzed pandemii. Jak podają autorzy w limitacjach swojej pracy było to spowodowane hipotezą, że obecność m.in. biegunki może być manifestacją COVID-19 [46]. Podobnie dane przedstawiono w raporcie z Madrytu, gdzie odnotowano spadek o 9,8% liczby wykonywanych badań w kierunku CDI [48]. Można spekulować, że powszechna obecność objawów brzusznych w COVID-19 oraz niedobór personelu medycznego spowodowała, że CDI nie zostało uwzględniane w diagnostyce różnicowej.

6.2.5. Powikłania polekowe.

Do potencjalnych przyczyn odpowiadających za występowanie objawów brzusznych w przebiegu COVID-19 mogą być również leki stosowane w leczeniu tej infekcji. Podczas stosowania m. in. azytromycyny czy lopinawiru + rytonawiru często obserwuje się obecność biegunki, bólu brzucha i nudności, co podkreślano w badaniach Molina i wsp. oraz Cao i wsp. [52,53]. W badaniu Cortegiani i wsp. przedstawiono, że leczenie hydroksychlorochiną i chlorochiną rzadko powoduje dolegliwości brzuszne i mają one wybitnie łagodny oraz przejściowy charakter [54]. Lesley i wsp. przedstawili dowody na hepatotoksyczne działanie tocilizumabu (rekombinowane humanizowane przeciwciało monoklonalne przeciwko ludzkiemu receptorowi IL-6), natomiast Grein i wsp. wykazali, że podobne działanie niepożądane

mogą wystąpić w trakcie terapii remdesiwirem (analog nukleotydu hamujący polimerazę RNA) [55,56].

Aspekt występowania objawów brzusznych jako powikłań terapii leczenia COVID-19 wydaje nie mieć aż tak znamienego wpływu na ich występowanie. Potwierdza to fakt, że objawy brzuszne u pacjentów z SARS-CoV-2 występowały przed przyjęciem do szpitala, czyli przed włączeniem leczenia lub czasem nawet wyprzedzały pojawienie się objawów typowych dla COVID-19. W naszej pracy dokonano analizy czynników ryzyka objawów brzusznych w aspekcie czasu ich wystąpienia. Udowodniono, że objawy brzusznej, które wystąpiły w trakcie pobytu w szpitalu mają związek z niektórymi lekami stosowanymi podczas leczenia COVID-19 m. in. antybiotyki oraz lopinawir + rytonawir, oraz z częstością CDI, co jest istotnie związane z powszechnym stosowaniem antybiotyków. Odwrotne wyniki zostały przedstawiony w pracy Wan i wsp., którzy wykazali, że częstość występowania biegunek w przebiegu choroby nie była związana ze stosowaniem leków przeciwwirusowych i antybiotyków [57].

6.3. Uzasadnienie połączenia publikacji w jeden cykl.

Cykl publikacji składa się z trzech części: dwóch prac oryginalnych dot. objawów brzusznych i ich wpływu na przebieg klinicznych COVID-19 w aspekcie czasu ich wystąpienia oraz czynników ryzyka infekcji *Clostridioides difficile* u pacjentów z SARS-CoV-2 oraz z pracy poglądowej dot. potencjalnych mechanizmów powstawania objawów brzusznych. Grupa 441 pacjentów z SARS-CoV-2, która hospitalizowana była Centralnym Szpitalem Klinicznym Ministerstwa Spraw Wewnętrznych i Administracji w dniach od 15 marca do 15 czerwca 2020 roku stanowi kohortę w obu pracach oryginalnych. W trakcie obserwacji kohorty u 255 (57,8%) pacjentów obserwowano objawy brzuszne, które występowały w różnym czasie tj. przed lub w trakcie hospitalizacji, co stało się podstawą do stworzenia pierwszej publikacji. Stwierdzono, że u 48 (10,9%) pacjentów z biegunką ma infekcję *Clostridioides difficile*, co było podstawą do wszczęcia drugiej pracy w celu analiza czynników ryzyka CDI. Praca poglądowa stanowi natomiast podsumowanie dotychczasowych teorii na temat powstawania objawów brzusznych w COVID-19.

Wyniki badania potwierdzają zróżnicowaną etiologię występowania objawów GI w COVID-19. Występowania objawów GI w przebiegu COVID-19 jest z pewnością jedną z manifestacji tej choroby. Kluczowa pozostaje kwestia leków stosowanych w

leczeniu COVID-19 i koinfekcji bakteryjnych. We wnioskach należy podkreślić konieczność ograniczenia stosowania antybiotyków w COVID-19 i stworzenia lub przestrzegania już istniejących protokołów leczenia w celu ograniczenia możliwych powikłań.

7. Założenia i cel pracy.

Głównym założeniem pracy była analiza wpływu objawów brzusznych na przebieg COVID-19. Z uwagi na różny czas ich występowania kohortę podzielono na grupę, u której objawy wystąpiły przed przyjęciem do szpitala lub w trakcie hospitalizacji. Następnie z uwagi na znaczny odsetek CDI wśród grupy pacjentów zdecydowano o przeprowadzeniu analizy czynników ryzyka tej choroby w trakcie COVID-19.

8. Materiał i metody:

Jest to jednoośrodkowe, retrospektywne badanie kliniczne, do którego włączono 441 pacjentów z potwierdzonym zakażeniem SARS-CoV-2, którzy byli hospitalizowani w Centralnym Szpitalu Klinicznym Ministerstwa Spraw Wewnętrznych i Administracji w dniach od 15 marca do 15 czerwca 2020 roku. Kryterium do włączenia do badania był wiek pacjentów powyżej 18 roku życia oraz potwierdzony wynik SARS-CoV-2. Rozpoznanie to zostało postawione na podstawie obowiązującego standardu tj. pozytywnego wyniku testu odwrotnej transkryptazy – reakcji łańcuchowej polimerazy (geny docelowe: RdRp, E i N) dla SARS-CoV-2 w wymazach z nosogardzieli.

Badanie składało się z dwóch części:

- I. W pierwszej części badania oceniono wpływ występowania objawów brzusznych na przebieg kliniczny COVID-19 w zależności od czasu ich wystąpienia tj. przed lub w trakcie hospitalizacji z powodu choroby.
- II. W drugiej części pracy oceniono częstość infekcji *Clostridioides difficile*, jej czynniki ryzyka oraz za pomocą modelu wieloczynnikowej regresji logistycznej czynniki ryzyka w porównaniu do kohorty pacjentów hospitalizowanych przed COVID-19.

9. Podsumowanie i wnioski:

- 1) Objawy brzuszne należą do częstych manifestacji COVID-19, w badanej kohorcie stwierdzono, że występowały u 57,8%.
- 2) Występowanie objawów brzusznych przed hospitalizacją wydaje się mieć protekcyjny wpływ na przebieg COVID-19, natomiast ich pojawienie się podczas pobytu w szpitalu wiązało się z gorszym rokowaniem pacjentów.
- 3) Stwierdzono związek pomiędzy występowaniem objawów brzusznych w trakcie pobytu w szpitalu, a niektórymi lekami stosowanymi w COVID-19 (antybiotyki oraz lopinawir + rytonawir)
- 4) W badaniu wykazano ponad czterokrotny wzrost zachorowalności na infekcję *Clostridioides difficile* u pacjentów z COVID-19 w porównaniu do okresu sprzed pandemii.
- 5) Występowanie objawów brzusznych w przebiegu COVID-19 oraz istotne zwiększenie częstości infekcji *Clostridioides difficile* mogło być spowodowane zmianami mikrobioty jelitowej, do których prawdopodobnie przyczyniło się szerokie stosowanie antybiotyków.

10. Kopie opublikowanych prac.

- 1. „Gastrointestinal symptoms in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) – friend or foe?”**

Lewandowski K, Kaniewska M, Rosołowski M, et al. Gastroenterology Review 2021;131(2):121–7. doi:10.20 452/pamw.15715

- 2. „Clostridioides difficile infection in coronavirus disease 2019 (COVID-19): An underestimated problem?”**

Lewandowski K, Rosołowski M, Kaniewska M, et al. Polish Arch Intern Med. 2021; 131(2): 121–7. doi:10.20 452/pamw.15715

- 3. „Gastrointestinal symptoms in COVID-19”.**

Lewandowski K, Kaniewska M, Rosołowski M, et al. Gastroenterology Review 2021;131(2):121–7. doi:10.20 452/pamw.15715

Gastrointestinal symptoms in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) – friend or foe?

Konrad Lewandowski¹, Magdalena Kaniewska¹, Mariusz Rosolowski^{2,3}, Adam Tworek¹, Grażyna Rydzewska^{1,4}

¹Clinical Department of Internal Medicine and Gastroenterology with Inflammatory Bowel Disease Unit, Central Clinical Hospital of the Ministry of Interior and Administration, Warsaw, Poland

²Department of Internal Medicine and Hypertension, Medical University of Białystok, Białystok, Poland

³Department of Hypertension, Gastroenterology and Internal Medicine, Medical University of Białystok Clinical Hospital, Białystok, Poland

⁴Collegium Medicum, Jan Kochanowski University, Kielce, Poland

Gastroenterology Rev
DOI: <https://doi.org/10.5114/pg.2021.111000>

Key words: coronavirus disease 2019 (COVID-19), gastrointestinal symptoms, coronavirus disease 2019 treatment.

Address for correspondence: Mariusz Rosolowski MD, PhD, Department of Internal Medicine and Hypertension, Medical University of Białystok, 14 Zurawia St, 15-540 Białystok, Poland, phone: +48-85-8316506, e-mail: Mariusz.Rosolowski@umb.edu.pl

Abstract

Introduction: Gastrointestinal (GI) symptoms can be considered as a manifestation of coronavirus disease 2019 (COVID-19).

Aim: Our study analysed GI symptoms depending on their occurrence, and their possible causes and impact on the course of COVID-19.

Material and methods: A retrospective, single-centre assessment of the frequency, risk factors, and impact of GI symptoms in 441 patients with COVID-19.

Results: A statistically significant reduction in the length of stay (LOS) (15 days vs. 17 days; $p = 0.04$), intensive care unit admission (ICU) (16.9% vs. 26.8%; $p = 0.02$), and need for mechanical ventilation (14.1% vs. 23.4%; $p = 0.02$) in the group who had experienced GI symptoms before hospitalization was noticed. For comparison, patients who developed GI symptoms during hospitalization had statistically significantly longer LOS (21 days vs. 15 days; $p = 0.0001$), were more frequently admitted to the ICU (38.1% vs. 18.6%; $p = 0.0003$), and had a higher need for mechanical ventilation (32.7% vs. 16.2%; $p < 0.001$). Risk factors for GI symptoms during hospitalization in COVID-19 patients included age, *Clostridioides difficile* infection, and receiving certain treatment (antibiotics and lopinavir + ritonavir).

Conclusions: The GI symptoms that developed before admission to hospital correlated with reduced severity of the course of COVID-19. However, in the group of patients who developed GI symptoms during hospitalization, attention should be paid to concomitant treatment. The use of antibiotics should be limited because they are associated with the deterioration of the course of COVID-19; one of the reasons might be changes in the intestinal microbiome.

Introduction

The most common symptoms of the coronavirus disease 2019 (COVID-19) are fever (83–99%), cough (59–82%), and fatigue (44–70%) [1–3]. However, gastrointestinal (GI) symptoms such as nausea, vomiting, diarrhoea, lack of appetite, and abdominal pain are also important features of COVID-19 [4, 5]. The most common is diarrhoea (13%), followed by nausea or vomiting (10%), and abdominal pain [6, 7].

There are many theories regarding the pathogenesis of GI symptoms during COVID-19, which include: affinity of SARS-CoV-2 for the angiotensin-converting

enzyme 2 (ACE2) receptor, disturbances in the intestinal microbiome, the theory of cytokine storm, and drug-related complications.

The relationship with the presentation of GI symptoms can be explained by the fact that SARS-CoV-2 has a high affinity for the ACE2 receptor (a significant amount of which is found in the cells of the gastrointestinal tract), and perhaps that is why the genetic material of the virus is present in the stool of COVID-19 patients [7–9]. It was found that the genetic material of SARS-CoV-2 present in the cells of the gastrointestinal epithelium causes impairment of its function or even destruction, which may manifest itself in GI symptoms,

such as diarrhoea [10]. GI symptoms also occurred in the course of the acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) and the Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) [11–13]. Finally, the presence of SARS-CoV-2 in human enterocytes was confirmed in *in-vitro* studies, which seems to confirm the above hypothesis [14].

A particular association between GI symptoms with high levels of Interleukin (IL) 6 (IL-6), IL-8, and IL-10 has been reported in patients with poor prognosis, who were admitted to the ICU due to respiratory failure [15–18]. The significantly increased concentration of pro-inflammatory cytokines such as IL-1, IL-6, IL-18, tumor necrosis factor- α (TNF- α), and interferon, which takes place in the “cytokine storm”, causes the mobilization of some cells of the immune system. The action of neutrophils, macrophages, and T lymphocytes results in the destruction of the vascular barrier and hence the destruction of the epithelium in the gastrointestinal tract and other organs such as the lungs. Because of time, the whole process leads to multi-organ failure.

Another hypothesis of the occurrence of GI symptoms concerns disturbances of the gut microbiome. In the work of Zuo *et al.* COVID-19 patients showed significant variations in the composition of the gut microbiome, characterized by an increase in opportunistic pathogens and a decrease in the number of beneficial commensals during hospitalization. This probably contributes to an increase in the permeability of the intestinal barrier, generates inflammation, and leads to damage to the epithelium in the gastrointestinal tract, which causes GI symptoms such as abdominal pain and diarrhoea. The number of *Coprobacillus*, *Clostridium ramosum*, and *Clostridium hathewayi* at the beginning of hospitalization correlated with the severity of COVID-19. On the other hand, *Alistipes onderdonkii*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Bacteroides dorei*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bacteroides massiliensis*, and *Bacteroides ovatus* were the main bacterial species showing a negative correlation with the intensity of COVID-19. In addition, downregulation of ACE2 expression in the intestine of mice showed a significant inverse correlation with the faecal SARS-CoV-2 viraemia in COVID-19 patients [19].

There is no specific antiviral treatment recommended for COVID-19. Therapy is mainly symptomatic, and oxygen is the first step in managing respiratory distress. During the first wave of the pandemic, chloroquine, hydroxychloroquine, and lopinavir + ritonavir were used in COVID-19 treatment. Inflammation inhibitors like tocilizumab, bamlanivimab + etesevimab, casirivimab + imsevimeb also appear to be effective [20]. The use of glucocorticosteroids and anticoagulants gained impor-

tance after publication of the RECOVERY trial [21, 22]. Moreover, the treatment of bacterial coinfections in the course of COVID-19 involves antibiotics, which were often used in over 70% of patients [23]. The extensive use of antibiotics is a risk factor for the occurrence of *Clostridioides difficile* infection (CDI) [24]. Due to the high use of antibiotics in COVID-19, an increased incidence of CDI has been observed [25].

The impact of GI symptoms in COVID-19 patients on their prognosis is not clearly defined. Currently available data are basically contradictory; GI symptoms may correlate with deterioration or improved patient's prognosis [26–28]. There are no studies available that analyse the prognosis of COVID-19 patients and factors depending on the time of GI symptoms.

On 16 March 2020, the Central Clinical Hospital of the Ministry of Interior and Administration in Warsaw was transformed into a place only for the care of patients with COVID-19. As many as 57.8% of patients presented with GI symptoms, which was an extremely large number compared to other studies. Due to their frequent occurrence, we decided to perform an analysis of those symptoms depending on the time of their presentation, i.e. before admission to hospital and during hospitalization.

Aim

We analysed retrospectively the frequency of gastrointestinal symptoms in the group that presented with these symptoms before admission and during the stay. Both groups were screened for the course of the disease, including length of stay (LOS), need for intensive care unit (ICU) admission, need for mechanical ventilation, and mortality. We analysed potential risk factors for their occurrence, such as drugs used during COVID-19 or CDI.

Material and methods

We conducted a retrospective analysis of risk factors and the impact of gastrointestinal symptoms on a cohort of 441 patients with confirmed SARS-CoV-2 infection, who were hospitalized between 16 March and 15 June 2020 at the Central Clinical Hospital of the Ministry of the Interior and Administration in Warsaw. Patients enrolled in the study were 18 years of age or older. The cohort was divided into 2 groups: patients who had developed GI symptoms before admission and patients who developed GI symptoms during hospitalization. GI symptoms were recorded based on patients' interviews. Glucocorticosteroid use was not analysed because it was introduced into guidelines on the treatment of COVID-19 in Poland after the studied period.

We included all hospitalized patients over the aforementioned period; no patient was excluded from the study.

The main purpose of the article was to assess the incidence, risk factors, and effect of GI symptoms on the course of COVID-19 depending on the time of symptom onset (before and during hospitalization).

Statistical analysis

Statistical analysis was conducted with the use of Statistica software, version 13.0 (<https://www.statsoft.pl/>). Nominal variables were presented as *n* (% frequency of group), while continuous variables as mean (SD) or median (Q1; Q3), depending on the normality of data distribution. Data normality was verified using the Shapiro-Wilk test and based on visual assessment of histograms. Groups were compared with χ^2 test for dichotomous variables and with *t*-test or Mann-Whitney *U* test for continuous variables, as appropriate. All tests were 2-sided, with *p* = 0.05 considered significant.

Bioethical considerations

The study protocol was approved by the Bioethics Committee of the Central Clinical Hospital of the Ministry of the Interior and Administration in Warsaw. The researchers analysed anonymized data.

Results

A total of 441 hospitalized patients with COVID-19 were included. Among them, 255 (57.8%) presented

Table I. Prevalence of individual GI symptoms in the COVID-19 patients (cases); general population (*n* = 441)

Parameter	N (%)
Gastrointestinal symptoms:	255 (57.8)
Abdominal pain	95 (37.3)
Diarrhoea	109 (42.7)
Nausea	32 (12.5)
Vomiting	37 (14.5)
Lack of appetite	124 (48.6)
No gastrointestinal symptoms	186 (42.2)

GI symptoms. The most common symptom was lack of appetite, which was reported in 124 (48.6%) cases. Other GI symptoms like diarrhoea were observed in 109 (42.7%), abdominal pain in 95 (37.3%), vomiting in 37 (14.5%), and nausea in 32 (12.5%) cases. The distribution of sex was similar in both groups: 49.4% females in the group with GI symptoms (cases) vs. 48.4% in the group without GI symptoms (controls); *p* = 0.083. Patients were significantly older: 68.44 years vs. 64.45 years in controls; *p* = 0.02 and had significantly more comorbidities: 91.0% vs. 82.3%; *p* = 0.007, respectively (Tables I and II).

The cohort was divided into 2 groups: 142 (32.2%) patients who had developed GI symptoms before admission and 113 (25.62%) patients who developed GI symptoms during hospitalization (Table III).

In the group of 142 (32.2%) patients who had developed GI symptoms prior to admission to hospital vs.

Table II. Study cohort, presence of GI symptoms, and risk analysis

Characteristics	All (<i>n</i> = 441)	No abdominal symptoms (<i>n</i> = 186)	Abdominal symptoms (<i>n</i> = 255)	<i>P</i> -value
Sex, female, <i>n</i> (%)	216 (49.0)	90 (48.4)	126 (49.4)	0.83
Age [years] mean (SD)	66.76 (18.4)	64.45 (20.48)	68.44 (16.62)	0.02
Hospitalization [days] median (Q1; Q3)	18 (10.00; 24.00)	15.00 (9.00; 22.00)	17.00 (10.00; 25.00)	0.1
Comorbid diseases, <i>n</i> (%)	385 (87.3)	153 (82.3)	232 (91.0)	0.007
Need for mechanical ventilation, <i>n</i> (%)	90 (20.4)	33 (17.7)	57 (22.4)	0.24
Stay in the ICU, <i>n</i> (%)	104 (23.6)	37 (19.9)	67 (26.3)	0.11
Mortality, <i>n</i> (%)	148 (33.6)	49 (26.3)	99 (38.8)	0.006
CDI, <i>n</i> (%)	48 (10.9)	6 (3.2)	42 (16.5)	< 0.001
PPI use, <i>n</i> (%)	197 (44.7)	66 (35.5)	131 (51.3)	< 0.001
Any antibiotic used, <i>n</i> (%)	354 (80.3)	133 (71.5)	221 (86.7)	< 0.001
Azithromycin use, <i>n</i> (%)	214 (48.5)	83 (44.6)	131 (51.4)	0.16
Other antibiotic than azithromycin used, <i>n</i> (%)	300 (68.0)	111 (59.7)	189 (74.1)	0.001
Chloroquine use, <i>n</i> (%)	321 (72.8)	132 (71.0)	189 (74.1)	0.46
Lopinavir and ritonavir use, <i>n</i> (%)	60 (13.6)	19 (10.2)	41 (9.3)	0.08

Table III. Onset of abdominal symptoms before hospitalizations vs. no abdominal symptoms

Characteristic	All (n = 441)	Start of abdominal symptoms before hospitalization (n = 142)	No abdominal symptoms before hospitalization (n = 299)	P-value
Sex, female, n (%)	216 (49.0)	69 (48.6)	147 (49.2)	0.91
Age [years] mean (SD)	66.76 (18.4)	67.13 (17.6)	66.58 (18.84)	0.77
Comorbid disease, n (%)	385 (87.3)	129 (90.8)	256 (85.6)	0.12
Hospitalization [days] median (Q1; Q3)	18 (10.00; 24.00)	15.00 (10.00; 20.00)	17.00 (10.00; 25.00)	0.04
ICU stay, n (%)	104 (23.6)	24 (16.9)	80 (26.8)	0.02
Need for mechanical ventilation, n (%)	90 (20.4)	20 (14.1)	70 (23.4)	0.02
Mortality, n (%)	148 (33.6)	53 (37.3)	95 (31.8)	0.24
CDI, n (%)	48 (10.9)	17 (12.0)	31 (10.4)	0.61
PPI use, n (%)	197 (44.7)	72 (50.7)	125 (41.8)	0.08

Table IV. Group of patients with GI symptoms before admission to hospital vs. no GI symptoms; general population (n = 441)

Parameter	N (%)
Gastrointestinal symptoms before admission:	151 (34.2)
Abdominal pain	70 (15.9)
Diarrhoea	60 (13.6)
Nausea	10 (2.2)
Vomiting	11 (2.5)
Lack of appetite	84 (19.9)
No gastrointestinal symptoms before admission	290 (65.8)

patients without GI symptoms, we observed a statistically significant reduction in the LOS: 15 days vs. 17 days; $p = 0.04$, a reduction in the frequency of stays in the ICU: 16.9% vs. 26.8%; $p = 0.02$, and a lower need for mechanical ventilation: 14.1% vs. 23.4%; $p = 0.02$, respectively. No statistical significance was noted for mortality among patients with GI symptoms prior to admission to hospital, i.e. 53 (37.3%) vs. asymptomatic groups, i.e. 95 (31.8%); $p = 0.24$. Sex distribution, age, comorbid diseases, proton pump inhibitors (PPI) used, and frequency of CDI were not risk factors for the presentation of GI symptoms before hospitalization (Table III). In the group of patients with GI symptoms before admission to hospital, the most common symptom was lack of appetite in 84 (19.9%), followed by abdominal pain in 70 (15.9%), diarrhoea in 60 (13.6%), vomiting in 11 (2.5%), and nausea in 10 (2.2%) cases (Table IV).

As many as 113 (25.62%) patients who developed GI symptoms during their hospital stay (vs. patients without GI symptoms) had statistically significantly longer LOS, i.e. 21 days vs. 15 days; $p = 0.0001$, more frequent ICU stays, i.e. 38.1% vs. 18.6%; $p = 0.0003$,

a higher need for mechanical ventilation, i.e. 32.7% vs. 16.2%; $p < 0.001$, and a more frequent incidence of CDI, i.e. 22.1% vs. 7.0%; $p = 0.0001$, respectively. No statistical significance was noted for mortality among patients with GI symptoms during their stay vs. asymptomatic groups, i.e. 46 (40.1%) vs. 102 (31.1%), respectively; $p = 0.06$. Age, frequency of CDI, and some specific drugs for COVID-19 treatment (any antibiotics, azithromycin, antibiotics other than azithromycin and lopinavir + ritonavir) were risk factors for the presentation of GI symptoms during hospitalization. Sex, comorbid diseases, PPI, and chloroquine use were not risk factors for presenting with GI symptoms during hospitalization (Table V). In the group of patients with GI symptoms during hospitalization, the most common was diarrhoea, present in 49 (11.1%) cases, followed by lack of appetite in 40 (9.1%), vomiting in 26 (5.9%), abdominal pain in 25 (5.7%), and nausea in 22 (5.0%) (Table VI).

Discussion

As a COVID-dedicated hospital with the highest level of reference, we dealt with a group of patients who were in advanced age and had many comorbidities. In the other analysed studies, the cohorts were younger, which makes our analysis much more difficult, because advanced age is an independent deteriorating prognostic factor in COVID-19 [28]. The mean age of our group of patients was 66.76 years, compared to the mean age in the study by Cheung *et al.* at 45.1 years, Livanos *et al.* at 60.5 years, and Pan *et al.* at 52.9 years [6, 28, 29].

Another unfavourable prognostic factor in COVID-19 is the presence of comorbidities [30, 31]. In our study, over 87.3% of patients had at least 1 comorbid disease, which is quite typical for elderly patients. In more than half of the younger cohort from the study of Cheung *et al.*, comorbidities were not analysed, which could be

Table V. Onset of abdominal symptoms during hospitalizations vs. no abdominal symptoms

Characteristics	All (n = 441)	Start of abdominal symptoms during hospitalization (n = 113)	No abdominal symptoms during hospitalization (n = 328)	P-value
Sex, female, n (%)	216 (49.0)	57 (50.4)	159 (48.5)	0.72
Age [years] mean (SD)	66.76 (18.4)	70 (15.25)	65.61 (19.3)	0.03
Hospitalization [days] median (Q1; Q3)	18 (10.00; 24.00)	21.00 (10.0; 32.00)	15.00 (9.00; 21.25)	0.0001
Need for mechanical ventilation, n (%)	90 (20.4)	37 (32.7)	53 (16.2)	< 0.001
ICU stay, n (%)	104 (23.6)	43 (38.1)	61 (18.6)	0.0003
Mortality, n (%)	148 (33.6)	46 (40.1)	102 (31.1)	0.06
CDI, n (%)	48 (10.9)	25 (22.1)	23 (7.0)	0.0001
Comorbid disease, n (%)	385 (87.3)	103 (91.2)	282 (86.0)	0.15
PPI use, n (%)	197 (44.7)	59 (52.2)	138 (42.1)	0.06
Any antibiotic used, n (%)	354 (80.3)	104 (92.0)	250 (76.2)	0.0002
Azithromycin use, n (%)	214 (48.5)	68 (60.2)	146 (44.5)	0.004
Other antibiotic used, n (%)	300 (68.0)	92 (81.4)	208 (63.4)	0.0004
Chloroquine, n (%)	321 (72.8)	90 (79.6)	231 (70.4)	0.06
Lopinavir and ritonavir, n (%)	60 (13.6)	24 (21.2)	36 (11.0)	0.006

due to the fact that patients of such a young age were not burdened with typical chronic diseases, e.g. diseases of the cardiovascular and respiratory systems. In other analysed studies, the number of comorbidities was clearly lower. In the study by Livanos *et al.*, only 16.3% of patients had comorbidities, and in the study by Pan *et al.* it was almost half (49.99%) of the cohort [6, 28, 29].

Lack of appetite was the most common GI symptom in our study, which occurred in 124 (48.6%) cases. As a highly non-specific symptom, it was not analysed in the study by Livanos *et al.* or Pan *et al.* Cheung *et al.* also found that anorexia was the most common symptom in the cohort with GI symptoms. It was present in 26.8%, which is almost half the frequency found in our cohort. The evidently greater lack of appetite in our cohort could be associated with a significantly higher age of patients and a greater number of comorbidities [6, 28, 29]. These factors, along with severe COVID-19 course that required hospitalization, could reduce appetite, especially considering the mechanism of inflammation and the so-called “cytokine storm”, with a high number of inflammatory mediators inversely correlating with appetite [31].

Diarrhoea, which is defined as more than 3 bowel movements a day, was also a common symptom among COVID-19 patients. Our study found it in 42.7% of patients. A much lower rate of diarrhoea in the Cheun *et al.* study, i.e. 12.5% of patients, may suggest that the symptom was overlooked in the early stages of the pandemic. When the battle against COVID-19 began,

Table VI. Group of patients with GI symptoms during hospitalization vs. no GI symptoms; general population (n = 441)

Parameter	N (%)
Gastrointestinal symptoms during hospitalization	162 (36.7)
Abdominal pain	25 (5.7)
Diarrhoea	49 (11.1)
Nausea	22 (5.0)
Vomiting	26 (5.9)
Lack of appetite	40 (9.1)
No gastrointestinal symptoms before admission	279 (63.3)

doctors focused primarily on fighting acute respiratory failure. This was also cited as a limitation in this work. A similar number of patients with diarrhoea was reported on by Livanos *et al.* (39%) and Pan *et al.* (34%), where the cohort patients were of relatively similar age and had fewer comorbidities [6, 28, 29]. The occurrence of diarrhoea in patients with COVID-19 may be related to the use of the ACE2 receptor by SARS-CoV-2. The entry of SARS-CoV-2 into the host cell is mediated by the interaction between the encapsulated viral spike protein and the host receptor, consisting of ACE2. Mouse models show that the presence of ACE2 alterations is associated with colitis, suggesting that virus activity may cause enzyme modifications, increasing the susceptibility to intestinal inflammation and diarrhoea [32].

Moreover, the aspect of disturbing the intestinal microbiota in the formation of diarrhoea is emphasized. In the publication of Zuo *et al.*, patients with SARS-CoV-2 infection were found to have significant changes in their gut microbiome compared with controls, characterized by enrichment of opportunistic pathogens and depletion of beneficial commensals [19].

Abdominal pain, defined as a non-specific subjective symptom characterized by pain localized in the abdominal cavity, occurred in 37.3% of patients in our study. In a study by Livanos *et al.* abdominal pain was not reported. This symptom was a rare occurrence in the study by Pan *et al.*, being present in 1.9% of patients, but was more frequent, i.e. present in 9.2% of patients, in the study by Cheung *et al.* [6, 28, 29].

Vomiting and nausea are other important, although non-specific gastrointestinal symptoms. In our study, vomiting occurred in 14.5% and nausea in 12.5% of cases. A similar rate of nausea and vomiting, i.e. 10.2%, was found in the study by Cheung *et al.* In the study by Pan *et al.* only vomiting was analysed, with the rate of 3.9%, which was relatively small. A similar rate of vomiting was found in the study by Livanos *et al.*, i.e. 13%, while nausea was found in more than 25% [6, 28, 29].

The results of our study on the occurrence of GI symptoms before hospitalization confirm the conclusions of the study by Livanos *et al.* because it is evident that the presence of GI symptoms before hospitalization correlates with improved course of the disease, particularly shown by shorter LOS, and reduced need for mechanical ventilation or stay in the ICU. In the study by Livanos *et al.*, 47% of patients reported GI symptoms. In our study, GI symptoms occurred much more often, i.e. in 57.8% of the entire cohort. The researchers did not take into consideration symptoms such as abdominal pain and lack of appetite, which may have contributed to the lower incidence of GI symptoms. The presence of diarrhoea (39% vs. 42.7%, respectively) and vomiting (13% vs. 12.5%, respectively) was similar. There was a difference in the incidence of nausea (25% vs. 12.5%, respectively); in the study by Livanos *et al.*, it occurred twice as often. The group presenting the GI symptoms was younger than ours, i.e. 61 years vs. 68.44 years, respectively. The biggest difference between the cohorts was in the distribution of comorbidities. In the study by Livanos *et al.* only 16.3% of patients with GI symptoms had comorbidities, as compared to 91% of patients in our study. It is worth emphasizing that the Central Clinical Hospital of the Ministry of the Interior and Administration in Warsaw had the highest referential degree, so it hospitalized the most difficult cases with the highest number of comorbidities, which required the most specialized care. In the study by Livanos *et al.*, the group

with GI symptoms had a significantly lower mortality as compared to the group from our study, i.e. 15.7% vs. 38.8%, respectively. The authors concluded that GI symptoms remain significantly correlated with better COVID-19 outcomes. The lower mortality in their study certainly resulted from the younger age of the patients, and above all from the fact that they had significantly fewer comorbidities. An external validation cohort further confirmed decreased mortality in COVID-19 patients with GI symptoms. In the second validation cohort, the presence of GI symptoms was used to predict reduced disease severity and mortality. During short-term follow-up there was a significantly lower rate of death. The inclusion of 3 independent cohorts totalling 1163 patients enhanced the strength and validity of their findings. Furthermore, their model to predict COVID-19 severity and mortality was improved by the inclusion of GI symptoms suggesting that intestinal parameters should be considered in initial assessments and stratification of COVID-19 patients. These data suggest the potential for tissue-specific response to SARS-CoV-2 and the potential for attenuation of viral pathogenicity by the GI tract. Compared to our study, the 3 cohorts from the Livanos *et al.* study were younger and had fewer comorbidities, which contributed to a significant reduction in the severity of the disease, and thus mortality. It was also emphasized that the attenuation of SARS-CoV-2 by the GI tract could significantly improve the disease course and reduce mortality. The findings from our study are similar for the group who presented with GI symptoms before admission to hospital [28].

On the other hand, our results concerning the occurrence of GI symptoms during hospitalization show an evidently worse course of the disease, defined by prolonged LOS, and increased need for mechanical ventilation and for ICU stay. The presence of those GI symptoms significantly correlates with some drugs used during COVID-19 treatment (antibiotics and lopinavir + ritonavir) and with the frequency of CDI, which is significantly associated with the widespread use of antibiotics [24, 25]

In the study by Pan *et al.*, 204 patients with COVID-19 from 3 hospitals in Hubei were enrolled. The mean age was 52.9 years, which is much lower than in our cohort (68.44 years). As many as 50.5% of their patients had GI symptoms, vs. 57.8% according to our results. Lack of appetite occurred in 78.6% of cases, which was higher than in our cohort (48.6%). Diarrhoea was reported less frequently than in our study, i.e. in 34% vs. 42.7% of cases, respectively. Abdominal pain (1.9% vs. 37.3%, respectively) and vomiting (3.9% vs. 14.5%, respectively) were reported less frequently as compared to our study. The authors excluded the lack of

appetite in analysis, because according to them it was not specific for the GI tract. There were 18.6% of cases with GI symptoms after the lack of appetite was excluded. As compared to our study, the lack of appetite was also the most common symptom. Its exclusion seems justified because the reason for its occurrence may be related to the “cytokine storm”, patient’s age, or number of comorbidities. In their study, Pan *et al.* analysed contact history, comorbidities (respiratory, digestive, cardiovascular, nervous, endocrine system diseases, and malignant tumour), medical treatment after admission (antibiotic, antifungal, antiviral treatment, glucocorticosteroids, nebulized interferon, and intravenous immunoglobulin), and clinical outcome (duration of hospitalization, stay in the ICU, discharge from hospital, or death). The study group was younger compared to our cohort and had fewer comorbidities. No statistical significance was demonstrated in the GI symptoms group for comorbidities, medical treatment, or clinical outcome. In our study, the outcome of COVID-19 infection varied in both groups, and significant differences were noted in LOS, stay in the ICU, and need for mechanical ventilation. Mortality was higher in our study (38.8%) as compared to the study by Pan *et al.* (18.45%), which could be related to the lower age of their cohort and fewer comorbidities. There was more widespread antibiotic treatment in our group than in the Pan *et al.* study, but they did not analyse the incidence of CDI due to the high rate of antibiotic use [29].

In the meta-analysis by Cheung *et al.*, among 4243 patients with COVID-19 from 6 countries, all GI symptoms (including loss of appetite, nausea and vomiting, diarrhoea, or abdominal pain) were observed in 17.6% of patients, which is much less when compared to our results. Loss of appetite was the most common GI symptom (26.8%), followed by diarrhoea (12.5%), nausea and vomiting (10.2%), and abdominal pain or discomfort (9.2%). The GI symptoms may have been overlooked at the beginning of the outbreak, especially in the study from Wuhan, because China was the first country to develop COVID-19, and this may have contributed to underestimated GI symptoms in previous studies. Cheung *et al.* concluded that patients with GI symptoms had a more severe disease course compared to the asymptomatic group (17.1% vs. 11.8%, respectively). In our study, there were 57.8% of GI symptoms compared to 17.6% in the meta-analysis by Cheung, who admits in his study’s limitations that these symptoms may have been underreported in some studies, which may lead to a lower pooled prevalence rate [6].

The strength of our study is a cohort treated in a uniform way from one centre and one geographical region. Another important feature is the analysis of

drugs used during hospitalization based on electronic patient charts. Our study has also several limitations. First, the study is retrospective in nature, and risk factors for the severe/critical type of COVID-19 were identified according to patients’ data on admission. Second, we did not look for SARS-CoV-2 RNA in stool samples, despite over 50% of viral RNA being detected in the faeces according to another study. Third, we analysed only hospitalized patients; therefore, mostly patients with severe COVID-19 were included in the analysis.

The data published until now on the presentation of GI symptoms in COVID-19 are very interesting. There are many discrepancies concerning their impact on the course of the disease, with most studies showing a negative impact on COVID-19 course and mortality. So far, these studies have not analysed other possible factors related to GI symptoms. Our work confirms GI symptoms as a manifestation of COVID-19. We analysed GI symptoms depending on the time of their onset and tried to elucidate risk factors for the development of GI symptoms during hospitalization. It turned out that antibiotics and lopinavir-ritonavir significantly correlated with symptoms during hospitalization and a worsened course of the disease. We understand that correlation does not mean causation, but we think that the fact that the time of occurrence of GI symptoms correlates with COVID-19 severity requires further research on the mechanisms behind it and can be useful for patient stratification. The fact that certain medications correlate with GI symptoms during hospitalization is also thought- and hypothesis-provoking and requires further elucidation.

Conclusions

The GI symptoms that developed prior to admission to hospital correlate with a reduced severity of the disease course; conversely, GI symptoms that develop during hospitalization correlate with a more severe COVID-19 course. Certainly, more in-depth research is required. However, inclusion of GI symptoms (before and during hospitalization) in disease severity prediction models seems promising. On the other hand, in the group of patients who develop GI symptoms during their stay, attention should be paid to concomitant medication.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

1. Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020; 395: 497-506.

2. Chen N, Zhou M, Dong X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet* 2020; 395: 507-13.
3. Guan WJ, Zhong NS. Clinical characteristics of Covid-19 in China. Reply. *N Engl J Med* 2020; 382: 1861-62.
4. Ramachandran P, Onukogu I, Ghanta S, et al. Gastrointestinal symptoms and outcomes in hospitalized coronavirus disease 2019 patients. *Dig Dis* 2020; 38: 373-9.
5. Rokkas T. Gastrointestinal involvement in COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Ann Gastroenterol* 2020; 33: 355-65.
6. Cheung KS, Hung IFN, Chan PPY, et al. Gastrointestinal manifestations of SARS-CoV-2 infection and virus load in fecal samples from a Hong Kong Cohort: systematic review and meta-analysis. *Gastroenterology* 2020; 159: 81-95.
7. Young BE, Ong SWX, Kalimuddin S, et al. Epidemiologic features and clinical course of patients infected with SARS-CoV-2 in Singapore. *JAMA* 2020; 323: 1488-94.
8. Cheung KS, Hung IFN, Leung WK. Association between famotidine use and COVID-19 severity in Hong Kong: a territory-wide study. *Gastroenterology* 2021; 160: 1898-9.
9. Wu Y, Ho W, Huang Y, et al. SARS-CoV-2 is an appropriate name for the new coronavirus. *Lancet* 2020; 395: 949-50.
10. Xiao F, Tang M, Zheng X, et al. Evidence for gastrointestinal infection of SARS-CoV-2. *Gastroenterology* 2020; 158: 1831-3e1833.
11. Leung WK, To KF, Chan PK, et al. Enteric involvement of severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus infection. *Gastroenterology* 2003; 125: 1011-7.
12. Chan KH, Poon LL, Cheng VC, et al. Detection of SARS coronavirus in patients with suspected SARS. *Emerg Infect Dis* 2004; 10: 294-9.
13. Cotten M, Watson SJ, Kellam P, et al. Transmission and evolution of the Middle East respiratory syndrome coronavirus in Saudi Arabia: a descriptive genomic study. *Lancet* 2013; 382: 1993-2002.
14. Lamers MM, Beumer J, van der Vaart J, et al. SARS-CoV-2 productively infects human gut enterocytes. *Science* 2020; 369: 50-4.
15. Xu X, Yu MQ, Shen Q, et al. Analysis of inflammatory parameters and disease severity for 88 hospitalized COVID-19 patients in Wuhan, China. *Int J Med Sci* 2020; 17: 2052-62.
16. Akbari H, Tabrizi R, Lankarani KB, et al. The role of cytokine profile and lymphocyte subsets in the severity of coronavirus disease 2019 (COVID-19): a systematic review and meta-analysis. *Life Sci* 2020; 258: 118167.
17. Del Valle DM, Kim-Schulze S, Huang HH, et al. An inflammatory cytokine signature predicts COVID-19 severity and survival. *Nat Med* 2020; 26: 1636-43.
18. Ragab D, Salah Eldin H, Taeimah M, et al. The COVID-19 cytokine storm: what we know so far. *Front Immunol* 2020; 11: 1446.
19. Zuo T, Zhang F, Lui GCY, et al. Alterations in gut microbiota of patients with COVID-19 during time of hospitalization. *Gastroenterology* 2020; 159: 944-55e948.
20. Zielecki P, Kaniewska M, Furmanek M, et al. Effective treatment of severe acute pancreatitis and COVID-19 pneumonia with tocilizumab. *Gastroenterology Rev* 2020; 15: 267-72.
21. Group RC, Horby P, Lim WS, et al. Dexamethasone in hospitalized patients with Covid-19. *N Engl J Med* 2021; 384: 693-704.
22. COVID-19 Treatment Guidelines Panel. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Treatment Guidelines. National Institutes of Health. Available at <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/>. Accessed August 4, 2021.
23. Cox MJ, Loman N, Bogaert D, et al. Co-infections: potentially lethal and unexplored in COVID-19. *Lancet Microbe* 2020; 1: e11.
24. Kukla M, Adrych K, Dobrowolska A, et al. Guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults. *Gastroenterology Rev* 2020; 15: 1-21.
25. Lewandowski K, Rosolowski M, Kaniewska M, et al. Clostridioides difficile infection in coronavirus disease 2019 (COVID-19): an underestimated problem? *Pol Arch Intern Med* 2021; 131: 121-7.
26. Leung C. Clinical features of deaths in the novel coronavirus epidemic in China. *Rev Med Virol* 2020; 30: e2103.
27. Papaefthymiou A, Koffas A, Kountouras J, et al. The impact of COVID-19 pandemic on gastrointestinal diseases: a single-center cross-sectional study in central Greece. *Ann Gastroenterol* 2021; 34: 323-30.
28. Livanos AE, Jha D, Cossarini F, et al. Gastrointestinal involvement attenuates COVID-19 severity and mortality. *medRxiv* 2020. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.09.07.20187666>.
29. Pan L, Mu M, Yang P, et al. Clinical characteristics of COVID-19 patients with digestive symptoms in Hubei, China: a descriptive, cross-sectional, multicenter study. *Am J Gastroenterol* 2020; 115: 766-73.
30. Baradaran A, Ebrahimzadeh MH, Baradaran A, et al. Prevalence of comorbidities in COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis. *Arch Bone Jt Surg* 2020; 8: 247-55.
31. Hojyo S, Uchida M, Tanaka K, et al. How COVID-19 induces cytokine storm with high mortality. *Inflamm Regen* 2020; 40: 37.
32. D'Amico F, Baumgart DC, Danese S, et al. Diarrhea during COVID-19 infection: pathogenesis, epidemiology, prevention, and management. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2020; 18: 1663-72.

Received: 20.08.2021

Accepted: 29.08.2021

Clostridioides difficile infection in coronavirus disease 2019 (COVID-19): an underestimated problem?

Konrad Lewandowski¹, Mariusz Rosołowski², Magdalena Kaniewska¹,
Piotr Kucha¹, Anna Meler³, Waldemar Wierzba^{5,6}, Grażyna Rydzewska^{1,4}

1 Clinical Department of Internal Medicine and Gastroenterology with Inflammatory Bowel Disease Unit, Central Clinical Hospital of the Ministry of the Interior and Administration, Warsaw, Poland

2 Department of Gastroenterology and Internal Medicine, Medical University of Białystok, Białystok, Poland

3 Department of Microbiology, Central Clinical Hospital of the Ministry of the Interior and Administration, Warsaw, Poland

4 Institute of Medicine, Collegium Medicum, Jan Kochanowski University, Kielce, Poland

5 Satellite Campus in Warsaw, University of Humanities and Economics, Łódź, Poland

6 Central Clinical Hospital of the Ministry of the Interior and Administration, Warsaw, Poland

KEY WORDS

acute diarrhea,
Clostridioides difficile
infection, COVID-19,
pseudomembranous
colitis, SARS-CoV-2

EDITORIALS

by Cammarota,
Giambò, and Ianiro,
see p. 116 and
Spigaglia, see p. 118

Correspondence to:
Mariusz Rosołowski, MD, PhD,
Department of Gastroenterology and
Internal Medicine, Medical University
of Białystok, ul. M. Skłodowskiej-
Curie 26a, 15-276 Białystok, Poland,
phone: +48 85 831 82 34, email:
mariusz.rosolowski@umb.edu.pl
Received: November 3, 2020.
Revision accepted:
December 6, 2020.
Published online:
December 14, 2020.
Pol Arch Intern Med. 2021;
131 (2): 121-127
doi:10.20452/pamw.15715
Copyright by the Author(s), 2021

ABSTRACT

INTRODUCTION The use of antibiotics and possibility of microbiota disruption during the coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic have raised questions about the incidence of *Clostridioides difficile* infection (CDI).

OBJECTIVES This study aimed to assess the frequency of and risk factors for CDI in patients with COVID-19.

PATIENTS AND METHODS We conducted a retrospective, single-center evaluation study on the frequency of and risk factors for CDI in patients with COVID-19 and in the prepandemic era. The analysis included 441 patients with severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection and 2961 patients hospitalized before the pandemic.

RESULTS A significant increase in the incidence of CDI was noted during the COVID-19 pandemic compared with the prepandemic period: 10.9% versus 2.6%, $P < 0.001$. Risk factors for CDI in patients with COVID-19 included: age, length of hospital stay, occurrence of diarrhea during hospitalization, use of antibiotics other than azithromycin, and coexistence of nervous system disease or chronic kidney disease—all of these factors had a weak association with CDI development. The multivariable logistic regression model indicated other unassessed variables that had an impact on the CDI incidence rate.

CONCLUSIONS We observed a higher incidence of CDI in patients with COVID-19. Antibiotic therapy was a relevant risk factor for CDI, although its effect was weak. Other drugs used during the pandemic were not found to have an impact on disease development. Possible causes of CDI may include fecal microbiota disruption by SARS-CoV-2 infection, but further research is needed to validate this hypothesis.

INTRODUCTION On March 11, 2020, the World Health Organization announced a pandemic caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2).¹⁻³ The most common symptoms of coronavirus disease 2019 (COVID-19) caused by SARS-CoV-2 include fever (83%–99%), cough (59%–82%), fatigue (44%–70%), and diarrhea (2%–50%).^{2,4-6} The diagnosis of COVID-19 is established by detecting SARS-CoV-2 RNA in a reverse

transcription–polymerase chain reaction test. The treatment of COVID-19 is mainly symptomatic and based on international research and guidelines.^{7,8} Recommended drugs include chloroquine, hydroxychloroquine, azithromycin, and lopinavir / ritonavir.⁹ The use of tocilizumab and remdesivir can be considered in severely ill patients.^{10,11} As the rates of bacterial coinfections are high, empiric antibiotic therapy is often necessary.⁷ It has been estimated that over

WHAT'S NEW?

The present paper is, to our knowledge, the first one to reveal a significant increase in the incidence of *Clostridioides difficile* infection in hospitalized patients during the coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic. Antibiotic therapy was found to be a relevant risk factor, although the effect was weak. Other drugs used at the time of the pandemic, such as chloroquine or lopinavir/ritonavir, did not show any impact on disease incidence. Apart from widespread antibiotic use, altered microbiota, which might be directly affected by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), can constitute another possible reason for disease development.

70% of patients with COVID-19 have been treated with antibiotics.¹²

Frail elderly individuals with multiple comorbidities are most severely affected by COVID-19.¹³ The extensive use of broad-spectrum antibiotics in a predisposed population raises questions about the occurrence of *Clostridioides difficile* infection (CDI). Fecal microbiota disruption caused by SARS-CoV-2 infection (the alterations are associated with SARS-CoV-2 fecal levels and COVID-19 severity) might constitute another crucial risk factor for CDI.¹⁴ As diarrhea is a symptom of both CDI and COVID-19, the problem might sometimes be overlooked.

On March 16, 2020, Central Clinical Hospital of the Ministry of the Interior and Administration in Warsaw, Poland, was turned into a single-purpose hospital dedicated solely to caring for patients with COVID-19. Patients with confirmed SARS-CoV-2 infection were hospitalized between March 15 and June 15, 2020. According to 2009 European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases guidelines, each hospitalized patient with acute diarrhea (defined as 3 or more loose stools within 24 hours) was tested for CDI. In this study, we aimed to analyze the incidence of CDI in the population of hospitalized patients with COVID-19 and compare it with the respective figures for the hospitalized population from 2019, the year preceding the pandemic.

PATIENTS AND METHODS We conducted a retrospective, single-center analysis of the frequency of CDI among 441 consecutive patients aged 18 years and older who had confirmed COVID-19 and were hospitalized between March 15 and June 15, 2020 in the Department of Internal Medicine and Gastroenterology with Inflammatory Bowel Disease Unit, Central Clinical Hospital of the Ministry of the Interior and Administration in Warsaw, Poland. The diagnosis of COVID-19 was confirmed by the positive result of reverse transcriptase–polymerase chain reaction test (gene targets: RdRp, E, and N) for SARS-CoV-2 in a nasopharyngeal swab specimen.

Every patient with acute diarrhea (defined as 3 or more loose stools within 24 hours) was evaluated for CDI (240 out of 441 patients met this

criterion). The diagnosis was established based on initial enzyme immunoassay screening for glutamate dehydrogenase antigen and toxins A and B; selective anaerobic culture was performed when necessary.

The group of patients with COVID-19 and confirmed CDI was then compared with a prepandemic cohort with CDI. That group consisted of 2961 consecutive patients aged 18 years or older, hospitalized between January and December 2019 in the Department of Internal Medicine and Gastroenterology with Inflammatory Bowel Disease Unit of the same hospital. The 2 study groups could be compared, since, according to a large European study, CDI is not a seasonal disease¹⁵ and we included all patients hospitalized in a given period of time, living in the same geographical region, and treated in a single center offering patients the same standard of care and testing strategy, a predictable range of services, and identical antimicrobial stewardship programs. We excluded from the analysis all patients with inflammatory bowel diseases, as the rate of CDI is known to be higher in that population.¹⁶ We ran a special inflammatory bowel disease subunit where numerous severely ill patients were hospitalized and, on the other hand, many single-day hospitalizations occurred (eg, for biologic treatment), all of which ended during the pandemic. Therefore, the inclusion of those patients would make the study groups incomparable. Apart from single-day hospitalizations, 3 other patients were excluded.

The primary study endpoint was to assess the frequency of and risk factors for CDI in patients with COVID-19. The secondary endpoint was to compare the frequency of and risk factors for CDI between patients treated before the pandemic and those with COVID-19 who were hospitalized in our hospital as well as to assess the effects of drugs used during the COVID-19 pandemic on the frequency of CDI.

Statistical analysis Statistical analysis was conducted with the use of the R package, version 3.5.4 (R project, Vienna, Austria). Nominal variables were presented as number (percentage), whereas continuous variables, as mean (SD) or median (interquartile range), depending on distribution. The normality of distribution was verified with the Shapiro–Wilk test and based on the visual assessment of histograms. The study groups were compared with the χ^2 test or the Fisher exact test for dichotomous variables, and with the *t* test or the Mann–Whitney test for continuous variables, as appropriate. The effect size was evaluated with Cramer V for dichotomous variables, and with a mean or median difference with 95% CI for continuous variables. Additional analysis (multivariable logistic regression) was performed to identify a combination of parameters predicting CDI in patients with COVID-19. Variables that significantly differed between the study groups based on the results of the analysis described above were

included in the models as predictors. As logistic regression was used, model coefficients were presented as log odds. For ease of interpretation, log odds were exponentiated into odds ratios (ORs), so that when the continuous predictor increased by a single unit or a dichotomous predictor was present, the expected risk in the outcome variable was described as odds (percentage). Model validation included the χ^2 test, Nagelkerke R^2 coefficient, and the Hosmer–Lemeshow goodness-of-fit test. All tests were 2-tailed, with $\alpha = 0.05$.

Ethics The study protocol was approved by the Bioethics Committee of the Central Clinical Hospital of the Ministry of the Interior and Administration in Warsaw, Poland. Anonymized data were analyzed.

RESULTS There was a significant increase in the incidence of CDI during the COVID-19 pandemic compared with the prepandemic period: 10.9% (48 cases of CDI among 441 patients) versus 2.6% (77 cases of CDI among 2961 patients); $P < 0.0001$.

Age, hospitalization time, treatment with antibiotics other than azithromycin, some comorbidities (cardiovascular disease, chronic kidney disease [CKD], and nervous system disease), and onset of abdominal symptoms during hospitalization constituted risk factors for CDI development during the COVID-19 pandemic. All variables had a significant yet weak effect (Cramer V , 0.1–0.3).

Antibiotics were administered in 354 patients (80.3%) with COVID-19, including 42 (87.5%) with CDI and 312 (79.4%) without CDI ($V = 0.06$, $P = 0.18$). Surprisingly, no effect of azithromycin was observed—it was used in a total of 214 patients (48.5%), including 28 (58.3%) with CDI and 186 (47.3%) without CDI ($V = 0.07$, $P = 0.15$). Antibiotics other than azithromycin were administered in 300 patients (68%)—more frequently in those with CDI (39 [81.3%]) than in those without CDI (261 [66.4%]), ($V = 0.1$, $P = 0.037$). There was an increase in antibiotic use, expressed as daily antibiotic intake per 100 person-days of hospitalization, from 57.2 before the pandemic to 105 during the pandemic. Due to the lack of data on the effects of drugs used in COVID-19, the effects of chloroquine and lopinavir/ritonavir were also examined. We showed that they did not impact the development of CDI. Detailed data are presented in [TABLE 1](#).

Parameters that differed between COVID-19 patients with CDI and those without were included as predictors in a multivariable logistic regression model with CDI as the outcome variable. Hospitalization time ($P = 0.01$), stay in an intensive care unit (ICU) ($P = 0.006$), and onset of abdominal symptoms during hospitalization ($P = 0.001$) represented significant variables in the model. Prolongation of hospitalization time by a single day increased the risk of CDI by 3% (OR, 1.03; 95% CI, 1.01–1.05). In patients staying in the ICU,

the risk of CDI was 76% lower (OR, 0.24; 95% CI, 0.08–0.61), while it was 3.4-fold higher in patients with abdominal symptom onset during hospitalization (OR, 3.38; 95% CI, 1.71–6.72). Other variables were nonsignificant in the model ([TABLE 2](#)). Model evaluation with the use of the χ^2 test confirmed that all variables were jointly significant ($P = 0.001$). The R^2 Nagelkerke coefficient was low (22%), which indicated the presence of other unassessed variables that had an impact on the occurrence rate of CDI in patients with SARS-CoV-2 infection. An additional assessment with the Hosmer–Lemeshow goodness-of-fit test ($P = 0.13$) confirmed the good fit of the model to the data.

The comparison of CDI incidence before and during the COVID-19 pandemic showed a significant relationship between the occurrence of SARS-CoV-2 infection and sex, antibiotic use, the presence of CKD, and the presence of nervous system disease in patients with CDI. Men with SARS-CoV-2 infection were more frequently affected by CDI than before the pandemic (45.8% vs 28.6%; $V = 0.18$; $P = 0.049$). Antibiotics were taken by 87.5% of SARS-CoV-2-infected patients with CDI vs 67.5% of patients with CDI before the pandemic ($V = 0.22$; $P = 0.012$). There was no significant difference in terms of age, hospitalization time, and frequency of proton pump inhibitor (PPI) use between SARS-CoV-2-infected patients with CDI and those treated before the pandemic. Chronic kidney disease and nervous system disease were more frequent in SARS-CoV-2-infected patients with CDI than in those with CDI before the pandemic, with a stronger effect for nervous system disease (31.3% vs 15.6%; $V = 0.19$; $P = 0.038$ for CKD and 11.7% vs 39.6%; $V = 0.33$; $P < 0.001$ for nervous system disease). No significant relationship was confirmed between CDI in patients with SARS-CoV-2 infection and those with CDI before the pandemic in terms of other comorbidities. Detailed data are presented in [TABLE 3](#).

DISCUSSION *Clostridioides difficile* is an anaerobic gram-positive bacterium that forms spores capable of causing colitis. It is most commonly detected in the elderly hospitalized individuals or in those with a positive history of antibiotic use. An increased number of CDI cases has been observed in recent years in younger patients after transplant, with inflammatory bowel disease, with immunodeficiency, and in those on dialysis.¹⁷ The discovery of a new hypervirulent strain of *Clostridioides*, called NAP1/B1/027, has been associated with an increase in CDI frequency and posed a significant burden on the healthcare system over the past 10 years. According to data published in the last decade, the annual cost of treating CDI in the United States ranges between 436 million and 3 billion dollars.¹⁸ Similarly to other authors, we wondered about the impact of the COVID-19 pandemic on the CDI rate, as some of risk factors for both diseases are similar

TABLE 1 Risk factors for *Clostridioides difficile* infection in patients with coronavirus disease 2019

Variable	All (n = 441)	With CDI (n = 48)	Without CDI (n = 393)	Cramer V or MD (95% CI) ^a	P value
Age, y, mean (SD)	66.76 (18.43)	74.94 (15.68)	65.76 (18.51)	9.18 ^a (3.7–14.66)	0.001
Hospitalization time, d, median (IQR)	16 (10–24)	21.5 (15–33)	15 (9–22)	–6.50 ^a (–12 to –4)	<0.001
Death	148 (33.6)	16 (33.3)	132 (33.6)	0.01	0.97
Antibiotics					
Any	354 (80.3)	42 (87.5)	312 (79.4)	0.06	0.18
Azithromycin	214 (48.5)	28 (58.3)	186 (47.3)	0.07	0.15
Other than azithromycin	300 (68)	39 (81.3)	261 (66.4)	0.1	0.037
Chloroquine	321 (72.8)	40 (83.3)	281 (71.5)	0.08	0.08
Lopinavir/ritonavir	60 (13.6)	4 (8.3)	56 (14.2)	0.05	0.26
PPIs	197 (44.7)	26 (54.2)	171 (43.5)	0.07	0.16
Comorbidities	385 (87.3)	46 (95.8)	339 (86.3)	0.09	0.1
Cardiovascular disease	269 (61)	36 (75)	233 (59.3)	0.1	0.035
Respiratory system disease	61 (13.8)	10 (20.8)	51 (13)	0.07	0.14
Diabetes	111 (25.2)	16 (33.3)	95 (24.2)	0.07	0.17
Chronic kidney disease	89 (20.2)	15 (31.3)	74 (18.8)	0.1	0.043
Nervous system disease					
Any	108 (24.5)	19 (39.6)	89 (22.8)	0.12	0.01
Dementia syndrome	47 (10.6)	10 (20.8)	37 (9.4)	0.11	0.016
Stroke	42 (9.5)	8 (16.7)	34 (8.7)	0.08	0.07
Epilepsy	16 (3.6)	3 (6.3)	13 (3.3)	0.05	0.30
Parkinson disease	6 (1.4)	2 (4.2)	4 (1)	0.08	0.08
Schizophrenia	6 (1.4)	2 (4.2)	4 (1)	0.08	0.08
Other	7 (1.6)	0	7 (1.8)	0.04	0.35
>1 disease	18 (4.1)	6 (12.5)	12 (3.1)	0.14	0.002
Cancer	75 (17)	10 (20.8)	65 (16.5)	0.04	0.46
Onset of abdominal symptoms before hospitalization	142 (32.2)	17 (35.4)	125 (31.8)	0.02	0.61
Onset of abdominal symptoms during hospitalization	113 (25.6)	25 (52.1)	88 (22.4)	0.21	<0.001

Data are presented as number (percentage) of patients unless otherwise indicated.

^a Groups compared with the χ^2 test or the Fisher exact test for dichotomous variables and with the *t* test (age) or the Mann–Whitney test (hospitalization time)

Abbreviations: CDI, *Clostridioides difficile* infection; IQR, interquartile range; MD, mean or median difference; PPIs, proton pump inhibitors

TABLE 2 Multivariable logistic regression model for *Clostridioides difficile* infection in patients with coronavirus disease 2019 (β coefficient of logistic regression)

Characteristic	Coefficient	SE	P value	OR	95% CI
Age, y	0.02	0.01	0.13	1.02	0.99–1.04
Hospitalization time, d	0.03	0.01	0.01	1.03	1.01–1.05
Intensive care unit stay	–1.44	0.52	0.006	0.24	0.08–0.61
Use of antibiotics other than azithromycin	0.58	0.41	0.16	1.79	0.82–4.24
Cardiovascular disease	0.24	0.41	0.56	1.27	0.58–2.94
Chronic kidney disease	0.46	0.38	0.23	1.58	0.74–3.29
Nervous system disease	0.29	0.35	0.41	1.34	0.66–2.66
Onset of abdominal symptoms during hospitalization	1.22	0.35	0.001	3.38	1.71–6.72
Constant	–5.04	0.9	<0.001	–	–

Abbreviations: OR, odds ratio

(advanced age, hospitalization, and immunodeficiency). Antibiotics are more frequently used in patients with COVID-19 and also a direct alteration of microbiota by SARS-CoV-2 has been observed.^{13,14} A single research letter on 9 CDI cases has been published recently.¹⁹ The study cohort from Detroit Medical Center hospitalized from March 11 to April 22, 2020 included elderly women with SARS-CoV-2 infection. Two other reports^{20,21} presented contradictory findings: a decreased number of cases and a stable number of cases compared with the prepandemic era, respectively. It is possible that the problem of CDI in patients with COVID-19 is underestimated.

Our study showed, for the first time, that the incidence of CDI during the current pandemic is much higher than before—10.9% versus 2.6%. There are numerous reasons for this observation: advanced age of patients, prolonged hospitalizations, and widespread antibiotic use.

TABLE 3 Risk factors for *Clostridioides difficile* infection before and during coronavirus disease 2019 pandemic

Variable	Total (n = 125)	Patients with CDI before the SARS-CoV-2 pandemic (n = 77)	Patients with CDI and SARS-CoV-2 infection (n = 48)	Cramer V or MD (95% CI) ^a	P value
Female sex	81 (64.8)	55 (71.4)	26 (54.2)	0.18	0.049
Age, y, mean (SD)	72.19 (16.89)	70.48 (17.48)	74.94 (15.68)	-4.46 ^a (-10.58 to 1.66)	0.15
Hospitalization, d, median (IQR)	21 (13–31)	19 (12–26)	21.5 (15–33)	-2.5 ^a (-8 to 1)	0.11
Any antibiotics	94 (75.2)	52 (67.5)	42 (87.5)	0.22	0.012
PPIs	58 (46.4)	32 (41.6)	26 (54.2)	0.12	0.17
Comorbidities	115 (92)	69 (89.6)	46 (95.8)	0.11	0.36
Cardiovascular disease	86 (68.8)	50 (64.9)	36 (75)	0.11	0.24
Respiratory system disease	19 (15.2)	9 (11.7)	10 (20.8)	0.12	0.17
Digestive system disease	40 (32)	22 (28.6)	18 (37.5)	0.09	0.3
Diabetes	36 (28.8)	20 (26)	16 (33.3)	0.08	0.38
Chronic kidney disease	27 (21.6)	12 (15.6)	15 (31.3)	0.19	0.038
Nervous system disease	28 (22.4)	9 (11.7)	19 (39.6)	0.33	<0.001
Cancer	18 (14.4)	8 (10.4)	10 (20.8)	0.14	0.11

Data presented as number (percentage) of patients unless otherwise indicated.

a Groups compared with the χ^2 test or the Fisher exact test for dichotomous variables and with the *t* test (age) or the Mann–Whitney test (hospitalization time)

Abbreviations: see TABLE 1

Several studies have presented data on antibiotic use in patients with COVID-19. A single-center study from Wuhan, China, has reported that 94% of critically ill patients received antibiotics.²² Another study of 799 moderately-to-severely ill patients provided similar numbers: between 89% and 93% of patients were treated with antibiotics. In our cohort, antibiotics were administered in 80.3% of the patients—a lower proportion—but there was still an increase in antibiotic use, expressed as daily antibiotic intake per 100 person-days of hospitalization, from 57.2 before the pandemic to 105 during the pandemic. In our analysis, we considered all the antibiotics together and also azithromycin separately (as for some time its use was more widespread due to the unpublished French data²³) and, surprisingly, we found that it is antibiotics other than azithromycin that are mainly associated with CDI development. This might be due to the fact that azithromycin carries a comparatively lower risk of CDI.²⁴

Due to the lack of data on the effects of drugs used for COVID-19, we also examined the effects of chloroquine and lopinavir / ritonavir and showed that they did not impact CDI development. Proton pump inhibitor therapy was not used more often in our cohort that developed CDI, which is not entirely surprising, as numerous observational studies and meta-analyses have reported conflicting results regarding the association of PPI therapy with the risk of CDI.²⁵ Glucocorticoids were not included in the analysis, because, at the time when the study was conducted (March 15–June 15, 2020), they were scarcely used for COVID-19 treatment (the results of the RECOVERY (Randomised Evaluation

of COVID-19 Therapy) trial were published on June 17, 2020).²⁶

In our multivariable logistic regression model, hospitalization time ($P = 0.01$), stay in an ICU ($P = 0.006$), and onset of abdominal symptoms during hospitalization ($P = 0.001$) were associated with CDI development. Antibiotic use was not related to CDI development in this model—we suspect that it was due to the presence of a weak association ($V = 0.1$ for antibiotics other than azithromycin) and might be an indicator of an unknown variable associated with CDI. The duration of hospitalization is often reported as a risk factor for CDI,²⁷ so this finding is not surprising. We cannot explain why ICU stay seems to be a protective factor—in our view, a confounding factor may exist here—probably, ICU stays were short, since it has been known that the prognosis of patients with COVID-19 who require mechanical ventilation is poor.²⁸ A more liberal CDI testing strategy might be another possible explanation, which would suggest that the true number of patients with CDI during the pandemic is even higher.

The clinical manifestations of CDI range from mild diarrhea to life-threatening fulminant colitis. Patients usually present with leukocytosis, malaise, abdominal cramping, pain, and watery diarrhea.²⁹ Unfortunately, isolated gastrointestinal symptoms might be present in the course of COVID-19 in up to 10% of patients.³⁰ For this reason, sometimes it is difficult to differentiate between the 2 diseases. Strict protocols for the diagnosis of CDI are therefore needed. Our finding that an onset of abdominal symptoms during hospitalization is a risk factor for CDI seems to be of importance and might help hospitalists who take care of patients with COVID-19.

The evaluation of our model indicated the presence of other unassessed variables that had an impact on the occurrence rate of CDI in patients with SARS-CoV-2 infection. The following hypothesis is, obviously, purely speculative, but it might confirm the direct alteration of microbiota by SARS-CoV-2 and requires further research. In a pilot study of 15 patients with COVID-19 compared with controls, persistent alterations in the fecal microbiome were found during hospitalization.¹⁴ Yet, another study of 30 patients showed significantly reduced bacterial diversity, a higher relative abundance of opportunistic pathogens, and a lower relative abundance of beneficial symbionts,³¹ so the issue of microbial alterations seems fascinating and remains a potential treatment target in both diseases. Furthermore, there has been evidence on the role of probiotics in the treatment of COVID-19. Lactobacilli and bifidobacteria have shown a promising beneficial effect and their administration might overcome gut dysbiosis induced by SARS-CoV-2 infection.³² However, the role of probiotics, although interesting, remains unproven. Since, according to guidelines, adjunctive probiotics are not recommended for CDI treatment,³³ they were not used in our cohort of patients.

We also examined whether the factors responsible for CDI in our study population during the pandemic differed from those present in the prepandemic period. There was no significant difference in terms of age, hospitalization time, or frequency of PPI use between patients with CDI during the SARS-CoV-2 pandemic and those treated before the pandemic. The most striking difference was seen in antibiotic use, which is probably a relevant factor in SARS-CoV-2/CDI coinfection. Other factors included nervous system disease and CKD, of which CKD carries a known risk of CDI.²⁷

Strengths and limitations Some limitations of our study should be acknowledged: lack of characteristics of a large cohort of prepandemic patients (although we did obtain the characteristics of the prepandemic patients with CDI) and different timespans for the analysis of the 2 study cohorts. However, as explained above, since (according to a large European study) CDI is not a seasonal disease¹⁵ and we included all hospitalized patients in a given time interval, living in the same geographical region, and treated at a single center offering the same standard of care, the same testing strategy, a predictable range of services, and identical antimicrobial stewardship programs to all patients, the 2 groups could be compared.

Moreover, the major strength of our study is the fact that, to our knowledge, it is the first report on a considerably higher rate of CDI in hospitalized patients during the pandemic. Even though the probability of coinfection has always been regarded as high and speculated upon,³⁴ the high rate of CDI and SARS-CoV-2 coinfection has not been confirmed yet. We acknowledge

that the findings of our study are in contrast to other recent publications, one of which reported a lower incidence of CDI,²¹ while another one showed a similar incidence of CDI²⁰ among patients with SARS-CoV-2 infection. The universal use of personal protective equipment, including gowns and gloves, can account for a lower rate of CDI coinfection. Unfortunately, studies performed in the prepandemic era did not confirm that improving hospital cleaning procedures³⁵ or moving patients to new locations or single rooms influenced the rate of CDI.³⁶ In our hospital, all preventive measures were implemented, including personal protective equipment, patient isolation, visit restrictions, reinforcements, and continuous education of the cleaning staff, but the rate of CDI still remained high. Therefore, although we are convinced that our data hold true, we cannot explain why the results obtained in various centers vary so considerably. In a retrospective cohort from New York, described by Luo et al,²⁰ there was a trend towards a larger percentage of positive tests yet a smaller percentage of tests sent as compared with the prepandemic era. Similarly, in a report from Madrid,²¹ there was a 9.8% reduction in the rate of requests for CDI tests. One might speculate that, perhaps, as abdominal symptoms of COVID-19 are common, in the heat of the pandemic and with the subsequent shortage of healthcare staff, CDI was not often considered in differential diagnosis. Further prospective observational data will be needed to solve this conundrum.

Conclusions In this study, we observed a significant increase in the incidence of CDI among hospitalized patients during the pandemic compared with the prepandemic period. The widespread antibiotic use constituted a crucial risk factor for CDI, although its effect was weak. Direct microbiota alteration by SARS-CoV-2 may be another possible explanation for the increased CDI incidence. A question should be raised whether we are facing an increase in the expected number of CDI cases. And since the answer might be positive, strict antibiotic stewardship programs and further research on microbiota alteration in COVID-19 are needed. The appearance of abdominal symptoms during hospitalization might be a relevant signal of CDI development. Clinicians should be aware of the risk of coinfection and remain vigilant—following protocols for CDI screening during the pandemic are of great importance.

ARTICLE INFORMATION

CONTRIBUTION STATEMENT GR conceived the concept of the study. KL, MR, MK, and PK contributed to study design. KL, MR, MK, PK, and AM were involved in data collection. MR analyzed the data. GR and WW coordinated funding for the project. All authors edited and approved the final version of the manuscript.

CONFLICT OF INTEREST None declared.

OPEN ACCESS This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons AttributionNonCommercialShareAlike 4.0 International License (CC BY-NC-SA 4.0), allowing third parties to copy and redistribute the material in any medium or format and to remix, transform, and

build upon the material, provided the original work is properly cited, distributed under the same license, and used for noncommercial purposes only. For commercial use, please contact the journal office at pamw@mp.pl.

HOW TO CITE Lewandowski K, Rosolowski M, Kaniewska M, et al. *Clostridioides difficile* infection in coronavirus disease 2019 (COVID-19): an underestimated problem? *Pol Arch Intern Med.* 2021; 131: 121-127. doi:10.20452/pamw.15715

REFERENCES

- 1 Lu R, Zhao X, Li J, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet.* 2020; 395: 565-574.
- 2 Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020; 395: 497-506. [↗](#)
- 3 Shamsoddin E. A COVID-19 pandemic guideline in evidence-based medicine. *Evid Based Dent.* 2020; 21: 71-73. [↗](#)
- 4 Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med.* 2020; 382: 1708-1720.
- 5 Chen N, Zhou M, Dong X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet.* 2020; 395: 507-513. [↗](#)
- 6 D'Amico F, Baumgart DC, Danese S, et al. Diarrhea during COVID-19 infection: pathogenesis, epidemiology, prevention, and management. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2020; 18: 1663-1672. [↗](#)
- 7 Flisiak R, Horban A, Jaroszewicz J, et al. Management of SARS-CoV-2 infection: recommendations of the Polish Association of Epidemiologists and Infectiologists as of March 31, 2020. *Pol Arch Intern Med.* 2020; 130: 352-357. [↗](#)
- 8 Kukla M, Adrych K, Dobrowolska A, et al. Guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults. *Prz Gastroenterol.* 2020; 15: 1-21. [↗](#)
- 9 Meini S, Pagotto A, Longo B, et al. Role of lopinavir/ritonavir in the treatment of COVID-19: a review of current evidence, guideline recommendations, and perspectives. *J Clin Med.* 2020; 9: 2050. [↗](#)
- 10 Beigel JH, Tomashek KM, Dodd LE, et al. Remdesivir for the treatment of COVID-19 – final report. *N Engl J Med.* 2020; 383: 1813-1826.
- 11 Rochwerg B, Agarwal A, Zeng L, et al. Remdesivir for severe COVID-19: a clinical practice guideline. *BMJ.* 2020; 370: m2924. [↗](#)
- 12 Cox MJ, Loman N, Bogaert D, et al. Co-infections: potentially lethal and unexplored in COVID-19. *Lancet Microbe.* 2020; 1: e11. [↗](#)
- 13 Leung C. Clinical features of deaths in the novel coronavirus epidemic in China. *Rev Med Virol.* 2020; 30: e2103. [↗](#)
- 14 Zuo T, Zhang F, Lui GCY, et al. Alterations in gut microbiota of patients with COVID-19 during time of hospitalization. *Gastroenterology.* 2020; 159: 944-955.e8. [↗](#)
- 15 Davies K, Davis G, Barbut F, 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. [↗](#)
- 16 Moens A, Verstockt B, Machiels K, et al. *Clostridium difficile* infection in inflammatory bowel disease: epidemiology over two decades. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2019; 31: 668-673. [↗](#)
- 17 Crobach MJ, Dekkers OM, Wilcox MH, et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): data review and recommendations for diagnosing *Clostridium difficile*-infection (CDI). *Clin Microbiol Infect.* 2009; 15: 1053-1066. [↗](#)
- 18 Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, et al. Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults: 2010 update by the society for healthcare epidemiology of America (SHEA) and the infectious diseases society of America (IDSA). *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2010; 31: 431-455. [↗](#)
- 19 Sandhu A, Tillotson G, Polistico J, et al. *Clostridioides difficile* in COVID-19 patients, Detroit, Michigan, USA, March–April 2020. *Emerg Infect Dis.* 2020; 26: 2272-2274. [↗](#)
- 20 Luo Y, Grinspan LT, Fu Y, et al. Hospital-onset *Clostridioides difficile* infections during the COVID-19 pandemic. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2020 Sep 23. [Epub ahead of print]. [↗](#)
- 21 Ponce-Alonso M, Saez de la Fuente J, Rincon-Carlavilla A, et al. Impact of the coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic on nosocomial *Clostridioides difficile* infection. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2020 Sep 8. [Epub ahead of print]. [↗](#)
- 22 Yang X, Yu Y, Xu J, 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: 475-481. [↗](#)
- 23 Gautret P, Lagier JC, Parola P, et al. Hydroxychloroquine and azithromycin as a treatment of COVID-19: results of an open-label non-randomized clinical trial. *Int J Antimicrob Agents.* 2020; 56: 105949. [↗](#)
- 24 Brown KA, Langford B, Schwartz KL, et al. Antibiotic prescribing choices and their comparative *C. difficile* infection risks: a longitudinal case-cohort study. *Clin Infect Dis.* 2020 Feb 18. [Epub ahead of print]. [↗](#)
- 25 Trifan A, Stanciu C, Girleanu I, et al. Proton pump inhibitors therapy and risk of *Clostridium difficile* infection: systematic review and meta-analysis. *World J Gastroenterol.* 2017; 23: 6500-6515. [↗](#)

26 Group RC, Horby P, Lim WS, et al. Dexamethasone in hospitalized patients with COVID-19 – preliminary report. *N Engl J Med.* 2020 Jul 17. [Epub ahead of print].

27 Eze P, Balsells E, Kyaw MH, et al. Risk factors for *Clostridium difficile* infections – an overview of the evidence base and challenges in data synthesis. *J Glob Health.* 2017; 7: 010417. [↗](#)

28 Bhatraju PK, Ghassemieh BJ, Nichols M, et al. Covid-19 in critically ill patients in the Seattle region – case series. *N Engl J Med.* 2020; 382: 2012-2022. [↗](#)

29 Ma J, Dubberke E. Current management of *Clostridioides (Clostridium) difficile* infection in adults: a summary of recommendations from the 2017 IDSA/SHEA clinical practice guideline. *Pol Arch Intern Med.* 2019; 129: 189-198. [↗](#)

30 Luo S, Zhang X, Xu H. Don't overlook digestive symptoms in patients with 2019 novel coronavirus disease (COVID-19). *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2020; 18: 1636-1637. [↗](#)

31 Gu S, Chen Y, Wu Z, et al. Alterations of the gut microbiota in patients with COVID-19 or H1N1 influenza. *Clin Infect Dis.* 2020 Jun 4. [Epub ahead of print].

32 Sundararaman A, Ray M, Ravindra PV, et al. Role of probiotics to combat viral infections with emphasis on COVID-19. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2020; 104: 8089-8104. [↗](#)

33 Su GL, Ko CW, Bercik P, et al. AGA Clinical Practice Guidelines on the Role of Probiotics in the Management of Gastrointestinal Disorders. *Gastroenterology.* 2020; 159: 697-705. [↗](#)

34 Spigaglia P. COVID-19 and *Clostridioides difficile* infection (CDI): possible implications for elderly patients. *Anaerobe.* 2020; 64: 102233. [↗](#)

35 Mitchell RG, Hall I, White N, et al. An environmental cleaning bundle and health-care-associated infections in hospitals (REACH): a multicentre, randomised trial. *Lancet Infect Dis.* 2019; 19: 410-418. [↗](#)

36 McDonald EG, Dendukuri N, Frenette C, Lee TC. Time-series analysis of health care-associated infections in a new hospital with all private rooms. *JAMA Intern Med.* 2019; 179: 1501-1506. [↗](#)

Gastrointestinal symptoms in COVID-19

Konrad Lewandowski¹, Magdalena Kaniewska¹, Mariusz Rosołowski^{2,3}, Grażyna Rydzewska^{1,4}

¹Department of Internal Medicine and Gastroenterology with Inflammatory Bowel Disease Unit, Central Clinical Hospital of Ministry of Interior and Administration, Warsaw, Poland

²Department of Internal Medicine and Hypertension, Medical University of Białystok, Białystok, Poland

³Department of Hypertension, Gastroenterology, and Internal Medicine, Medical University of Białystok Clinical Hospital, Białystok, Poland

⁴Collegium Medicum, Jan Kochanowski University, Kielce, Poland

Gastroenterology Rev

DOI: <https://doi.org/10.5114/pg.2021.112683>

Key words: SARS-CoV-2, COVID-19, gastrointestinal symptoms, gut microbiota.

Address for correspondence: Magdalena Kaniewska, Department of Internal Medicine and Gastroenterology with Inflammatory Bowel Disease Unit, Central Clinical Hospital of Ministry of Interior and Administration, Warsaw, Poland, e-mail: kaniewscy@o2.pl

Abstract

SARS-CoV-2 infection manifests mainly by involving the respiratory system. Due to the presence of abdominal symptoms, the digestive system is clearly involved in the expression, transmission, and possible pathogenesis of COVID-19. There are many theories regarding the development of abdominal symptoms, including angiotensin 2 receptor, cytokine storm, and disturbances of the intestinal microbiome. This paper provides an overview of the most important meta-analyses and publications on gastrointestinal symptoms and the gut microbiome in COVID-19.

Introduction

The 2019 coronavirus disease (COVID-19) can be clinically characterized as a pneumonia that often leads to respiratory failure; the gastrointestinal (GI) tract is strongly involved, which translates into the disease's manifestation and possible transmission. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) enters a host cell through a receptor on its surface. This receptor is the angiotensin-converting enzyme 2 receptor, which is more numerous in the GI tract than in the respiratory system [1–3]. The genetic material of the virus has been detected in stool in up to 50% of patients. It is possible that an intestinal infection may adversely affect lung infection through changes in the intestinal microbiome, the phenomenon of cytokine storm, and increased intestinal permeability [1, 4–8]. Abdominal symptoms are common among COVID-19 patients, but reports regarding their frequency or impact on disease course are contradictory.

Studies published at the beginning of the pandemic suggested that GI symptoms occur in less than 10% of patients; this was confirmed in the last 2 meta-analyses [9–13]. However, the results of most studies suggest that abdominal symptoms are more common – from

30% to 60% [14–17]. The issue of abnormal laboratory test results concerning liver function has also been raised, estimated to occur in 15% to 50% of cases [9, 12, 13, 15]. The effect of GI involvement on the severity of COVID-19 is still unclear [18–21].

Gastrointestinal symptoms

Cheung *et al.*, in their study and meta-analysis of findings from publications, found that 17.6% of patients with COVID-19 had GI symptoms. Moreover, virus RNA was detected in the stool samples of 48.1% of patients. Among 25.4% of patients who presented GI symptoms, the most common symptom was diarrhoea in 22%, followed by abdominal pain/discomfort in 11.9%, and vomiting in 1.7% of patients. Stool viral RNA was found in 15.3% of cases, and it was higher among those with diarrhoea. For the meta-analysis of all GI symptoms, Cheung *et al.* took into consideration 4243 patients with COVID-19 from 60 studies. The most common symptom, described by 26.8% of the cohort, was lack of appetite, which is not very specific. Diarrhoea was the second most common, in 12.5% of patients, followed by nausea/vomiting in 10.2%, and abdominal pain/discomfort in 9.2%. Significant hetero-

geneity was seen for anorexia, nausea/vomiting, and diarrhoea. Chueng *et al.* concluded that the actual prevalence of any GI symptoms could be underestimated because many earlier studies did not report symptoms other than diarrhoea, and they also pointed to the probability of faecal transmission. They also showed many similarities to SARS and MERS infections [22].

In a multicentre cohort study across 9 hospitals in the United States, a total of 318 patients with confirmed COVID-19 were included. Overall, 61.3% of the patients reported at least 1 GI symptom on presentation; the most common were loss of appetite (34.8%), diarrhoea (33.7%), and nausea (26.4%) [16]. The frequency of GI symptoms in this study was higher than in studies from China.

In the largest meta-analysis, which was performed by Tariq *et al.*, a total of 78 studies with 12,797 patients were included. Among the GI symptoms, loss of appetite occurred in 22.3% of the individuals, diarrhoea in 12.4%, nausea/vomiting in 9.0%, and abdominal pain in 6.2%. Mortality in the group of GI symptoms was 0.4%, which was similar to the overall mortality (2.1%; $p = 0.15$). Significant heterogeneity was reported in the diarrhoea and nausea/vomiting. They summarized that GI symptoms are seen up to 1 in 5 patients with COVID-19. The highest prevalence was for anorexia, whereas the other symptoms occurred in up to 10% of patients. Tariq *et al.* concluded that this must be understood with caution because variable follow-up, lack of uniform criteria for mortality, and lack of adjustment for confounders would prevent proper estimation of mortality. The amount of diarrhoea and nausea/vomiting were lower in the studies from China than in studies conducted outside China, probably due to increasing knowledge and awareness of the presence of GI symptoms. They pointed out that patients with mild disease were not admitted to the hospital, which could affect estimates of symptom prevalence. Also, the exclusion of this group means that GI symptoms may be underreported. Moreover, in the included studies there was no information on GI-specific laboratory tests, endoscopy reports, histopathology reports, or imaging. The overall mortality was similar to the mortality in patients with GI symptoms, so there was no uniform definition for COVID-19-attributable mortality [23]. Standardization is crucial, so the following should be defined: death due to the infection itself or to comorbid disease, and the time frame. The systemic review did not assess the effect of different factors, such as age or comorbid diseases.

Elmunzer *et al.* examined the occurrence and influence of abdominal symptoms on the course of COVID-19. 1992 patients from 36 centres were included

in the study. A regression analysis was performed to assess the association between digestive symptoms and the severity of COVID-19. Of the 1992 patients, 53% experienced at least 1 GI symptom at any time during the disease, the most common ones being diarrhoea (34%), nausea (27%), vomiting (16%), and abdominal pain (11%). In 74% of the cases, the GI symptoms were mild. After adjusting for potential confounders, the presence of GI symptoms at any time (odds ratio (OR) = 0.93; 95% CI: 0.76–1.15) or liver test abnormalities on admission (OR = 1.31; 95% CI: 0.80–2.12) were not associated independently with mechanical ventilation or death. In their conclusions, they emphasized that GI symptoms and liver function test abnormalities were common, but most were mild and not associated with a more severe clinical course [24].

The concept of the gut-lung axis in COVID-19

In the human gut, the existing microbiome consists of 10^{14} microorganisms, including bacteria, archaea, viruses, and fungi [25]. Bacteria of the genera *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, and *Bacteroidetes* should dominate the composition of the normal intestinal microbiome [26]. It positively influences various physiological functions in the human body and exerts a key role through its protective, trophic, immunomodulatory, and metabolic effects. The presence of beneficial microorganisms in the respiratory tract, mainly in the lungs, has also been described [27]. *Bacteroidetes* and *Firmicutes* are considered to be the dominant bacteria in the intestine. A similar relationship has been proven in the respiratory tract where *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, and *Proteobacteria* are present [28]. The relationship between the presence of similar strains of bacteria in the intestine and the lungs is associated with the exchange between the intestinal microbiota and the lungs and is defined as the “gut-lung axis” [29]. The fact that endotoxins and metabolites produced by bacteria (e.g. during pneumonia) in the bloodstream can induce changes in the intestinal microbiome suggests that this axis is bidirectional [30]. A deterioration in the composition of the intestinal microbiome has been demonstrated in respiratory infections [31]. The theory that improving the composition of the gut microbiome may benefit and reduce inflammation in the lungs seems to be valid. Current data show that disturbance of the gut microbiome during infection with SARS-CoV-2. COVID-19 is most often pneumonia, which can sometimes lead to acute respiratory distress syndrome (ARDS) [32]. There are reports of a role of the gut microbiome in the pathogenesis of sepsis and ARDS [33]. Additionally, it is well known that deterioration of the quality of the

intestinal microbiome, i.e. dysbiosis, may then be associated with many diseases or may worsen the course of comorbidities [34].

Gut microbiota in COVID-19

Zuo *et al.* investigated changes in the intestinal microbiome of patients with confirmed SARS-CoV-2 infection during hospitalization and assessed the relationship between the disease severity and the excretion of viral genetic material in the faeces. They performed shotgun metagenomic sequencing on faecal samples from 15 COVID-19 patients. During hospitalization, samples were taken 2 or 3 times a week. Patients with SARS-CoV-2 infection had significant changes in their gut microbiome compared with the controls, characterized by an enrichment of opportunistic pathogens and a depletion of beneficial commensals during hospitalization and at all time-points during hospitalization. Depleted symbiotes and gut dysbiosis persisted even after SARS-CoV-2 infection. An abundance of *Coprobacillus* spp., *Clostridium ramosum*, and *Clostridium hathewayi* at baseline correlated with the severity of COVID-19; there is an inverse correlation between the abundance of *Faecalibacterium prausnitzii* (an anti-inflammatory bacterium) and the severity of the disease. During hospitalization, *Bacteroides dorei*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bacteroides massiliensis*, and *Bacteroides ovatus* – which downregulate angiotensin-2-converting enzyme expression in the gut of mice – inversely correlated with SARS-CoV-2 burden in patients' stool samples. They found permanent changes in the fecal microbiome during hospitalization compared with the control group. The changes in the microbiota were associated with the levels of SARS-CoV-2 and COVID-19 in the faeces. Moreover, the reduction of ACE2 expression in the intestines of mice showed a significant inverse correlation with the viral load of SARS-CoV-2 in the faeces of COVID-19 patients [35].

Probiotics in COVID-19

The response to SARS-CoV-2 infection may be regulated by the gut microbiome, which is instrumental in maintaining optimal immune function by preventing an excessive inflammatory response. Microorganisms serve as a source of microorganism-associated molecular patterns (MAMPs) as well as pathogen-associated molecular patterns (PAMPs). Both are recognizable on host cells by pattern recognition receptors (PRRs), which include Toll-like receptors (TLRs) and nucleotide binding receptors [36]. TLRs recognize MAMPs and PAMPs among other molecules and elicit different immune responses depending on the cell type: ligand or receptor. PRR training with expression of innate cells with micro-

bial/non-microbial ligands of the intestine is needed as a protective mechanism that is independent of adaptive immunity during secondary infection or pathogen exposure [36]. The metabolites secreted by the gut microbiota and immunomodulatory signals, which include short chain fatty acids – such as butyrate, acetate, and propionate – and secondary bile acids secreted by commensals such as *Bifidobacteria* spp., bind to their receptors in cells and macrophages, thereby modulating their metabolism and functions [37]. The introduction of probiotic strains such as *Bifidobacterium lactis* into healthy elderly volunteers resulted in a significant increase in the percentage of mononuclear leukocytes and the anti-tumour activity of NK cells [38]. The composition of a balanced gut microbiota has a great influence on the effectiveness of lung immunity [27]. Disturbances in the gut microbiome due to the widespread use of antibiotics may also have a similar effect as that observed in population studies where the increased use of penicillins, cephalosporins, macrolides, and quinolones correlated with an increased risk of lung cancer in humans [39]. Probiotics have shown good results in improving inflammation as well as regulating innate immunity via TLRs and the relevant signalling pathways [40]. Studies based on a mouse model have shown that Treg cells, which downregulate allergic response, can be induced by the administration of probiotic bacteria such as *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium lactis*, and *Bifidobacterium breve* [41]. One conclusion suggests that modulation of the gut microbiota may affect immunity during SARS-CoV-2 infection.

ACE-2 receptor in COVID-19

The ACE2 receptor, through which the virus enters a cell, has many functions in the GI tract, regulating intestinal amino acid homeostasis, modulating the intestinal microbiome, and influencing the expression of antimicrobial peptides, among other things [42]. It has been found that COVID-19 running may reduce the amount of ACE2 in various tissues, which, as with functional diseases, may cause irritable bowel syndrome, disorders of the gut microbiome, and micro-inflammation in the digestive tract, for example [43]. This theory largely explains the occurrence of ailments such as abdominal pain and diarrhoea. In addition, blocking ACE2 appears to be a potential treatment option for SARS-CoV-2, and research is currently underway. Among the new compounds under development is human recombinant soluble ACE-2 (hrs-ACE-2 [APN01; Apeiron Biologics, Vienna, Austria]), which has 2 mechanisms of action that should theoretically be beneficial for COVID-19. The first is to bind the viral peak protein and thus neutralize SARS-CoV-2, and the second is to minimize dam-

age to many organs, including the lungs, kidneys, and heart, due to the unrelenting hyperactivation of the renin-angiotensin system and increased angiotensin II levels. ACE-2 administration for 4–6 h was tested in 89 patients, namely, healthy volunteers in phase I studies and patients with ARDS in phase II clinical studies, with an acceptable safety profile. Moreover, hrs-ACE-2 can reduce the SARS-CoV-2 load 1000 to 5000 times in *in vitro* cell culture and modified organoid experiments, which directly shows that ACE2 can effectively neutralize SARS-CoV-2 [44].

Cytokine storm in COVID-19

The term cytokine release syndrome (CRS), more commonly known as cytokine storm, is used to describe the abnormal secretion of mediators and associated immunopathological events that occur after severe bacterial and viral infections. CRS is associated with an excessive pro-inflammatory response and an ineffective anti-inflammatory control mechanism, leading to tissue damage. The human immune system plays a pivotal role in eliminating infectious agents such as influenza and coronaviruses by recruiting leukocytes and releasing cytokines. The limited and well-harmonized stimulation of immune responses is usually the body's first mechanism of action to build up defence against any viral infection. Nevertheless, an unregulated and over-exaggerated immune response can alter immune function, leading to tissue damage and organ failure. Gu *et al.* postulated that the production of various cytokines that cause cytokine storms in SARS-CoV-2 patients causes immunopathogenic injuries [45]. Therefore, effectively lowering the levels of pro-inflammatory cytokines in patients with severe COVID-19 is crucial in order to prevent the deterioration of their health. Hojyo *et al.* confirmed that during SARS-CoV-2 infection, the alveolar epithelial cells, macrophages, and circulating monocytes are activated by TLRs, which are among the larger set of PRRs. Thanks to their immune memory, they recognize the threat and then produce a large number of inflammatory cytokines and chemokines that attract even more immune cells, especially monocytes and T cells, causing widespread pneumonia [46]. Xu *et al.* presented the results of autopsies in COVID-19 patients, in which lung-dominated interstitial mononuclear inflammatory infiltrates and severe lymphopaenia with hyperactivated T cells in the peripheral blood were found [47]. Moreover, Qin *et al.* demonstrated that COVID-19 patients also had a lower level of regulatory T lymphocytes, which were more clearly lowered in cases of severe infections [48]. Huang *et al.* proved that patients hospitalized due to a severe course of COVID-19 showed high levels of IL-2, IL-7, IL-10, IL-18, G-CSF, TNF, CXCL10, MCP1, and MIP1 α in

the serum, which confirms that COVID-19 may be associated with cytokine storming [10].

These findings have led to the hypothesis that the main cause of death in COVID-19 is ARDS due to the cytokine storm. Intravascular coagulation was one of the causes of multi-organ damage mediated mainly by inflammatory cytokines, in particular IL-6 [10, 47, 48]. Patients presented multi-organ failure with coagulation disorders represented by lower platelet counts and increased levels of D-dimers, which were associated with poor prognosis and could explain the presence of microclots in the lungs, limbs, brain, heart, GI organs, and kidneys. Park *et al.* recognized cell apoptosis induced by SARS-CoV-2 infection as another cause of multi-organ failure, leading to vascular leakage and inducing a cytopathic effect on cells [49]. It therefore appears that disease worsening or mortality may also be due to a cytokine storm, including ARDS, from viral lung infection, which is responsible for whole-body multi-organ failure. These inflammatory mediators can also lead to vascular hyperpermeability and may stimulate ACE2-expressing endothelial cells in arteries and veins, which together with viral particles cause systemic inflammation.

Conclusions

We need to understand every possible pathomechanism in the course of COVID-19 as soon as possible. The presence of SARS-CoV-2 RNA in the stool in some patients, as well as GI symptoms and disturbances in the intestinal microbiome, may play an important role in determining the course of this disease. Medicines used to treat COVID-19 can also be considered a cause of GI symptoms, because azithromycin, lopinavir, and ritonavir often cause side effects of diarrhoea, abdominal pain, or nausea [50]. Elderly people, immunocompromised patients, and patients with other comorbidities such as type 2 diabetes mellitus or cardiovascular disorders have a much more severe disease course and a significantly higher risk of death.

Studies published at the beginning of the pandemic suggested that GI symptoms occur in less than 10% of patients [9–13]. However, the results of most studies suggest that abdominal symptoms are more common, from 30% to 60% [14–17]. The issue of abnormal liver function laboratory test results has also been raised, which is estimated to occur in 15% to 50% of cases [9, 12, 13, 15]. The effect of GI involvement on the severity of COVID-19 is still unclear [18–21]. Most studies to date have reported that the presence of abdominal symptoms worsens the course of COVID-19. The reports by Livanos *et al.* and the extensive work carried out in North American centres by Elmunzer *et al.* seem to be an exception. Livanos *et al.* postulated a theory based

on the protective role of GI symptoms on the course of COVID-19. The presence of these symptoms attenuates SARS-CoV-2 and leads to a lower inflammatory response, which in turn reduces the clinical course of the disease [51]. Elmunzer *et al.* concluded that GI symptoms and liver test abnormalities were common in patients hospitalized with COVID-19, but that the majority were mild and not associated with a more severe clinical course [25]. The current research, however, requires validation; meta-analyses are necessary to clearly establish how abdominal symptoms affect the prognosis of COVID-19 patients.

It is worth noting that in patients with COVID-19, there are numerous data on disturbances in the gut microbiome, so there is a possibility that intestinal dysbiosis may also influence the clinical symptoms of COVID-19. Many probiotics have been shown to improve or relieve lung disease by modulating the immune system. The best way to modulate it is by following a balanced diet, which should be refined depending on the patient's needs. This may improve and accelerate the recovery of patients, especially elderly or immunocompromised people infected with SARS-CoV-2. An effective nutritional strategy and specific functional food targeting the gut microbiome for a specific population group can significantly improve the prognosis of COVID-19 patients. It certainly requires more careful research that can help us in the unequal fight against SARS-CoV-2.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- Xiao F, Tang M, Zheng X, et al. Evidence for gastrointestinal infection of SARS-CoV-2. *Gastroenterology* 2020; 158: 1831-3.
- Du M, Cai G, Chen F, et al. Multiomics evaluation of gastrointestinal and other clinical characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Gastroenterology* 2020; 158: 2298-3230.
- ACE2 angiotensin I converting enzyme 2 [Homo sapiens (human)]. Gene ID: 59272. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/59272>. Accessed May 9, 2020.
- Han C, Duan C, Zhang S, et al. Digestive symptoms in COVID-19 patients with mild disease severity: clinical presentation, stool viral RNA testing, and outcomes. *Am J Gastroenterol* 2020; 115: 916-23.
- Wu Y, Guo C, Tang L, et al. Prolonged presence of SARS-CoV-2 viral RNA in faecal samples. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2020; 5: 434-5.
- Bradley KC, Finsterbusch K, Schnepf D, et al. Microbiota driven tonic interferon signals in lung stromal cells protect from influenza virus infection. *Cell Rep* 2019; 28: 245-56.
- Marsland BJ, Trompette A, Gollwitzer ES. The gut-lung axis in respiratory disease. *Ann Am Thorac Soc* 2015; 12 (Suppl 2): S150-6.
- Mönkemüller K, Fry L, Rickes S. COVID-19, coronavirus, SARS-CoV-2 and the small bowel. *Rev Esp Enferm Dig* 2020; 112: 383-8.
- Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med* 2020; 382: 1708-20.
- Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020; 395: 497-506.
- Jin X, Lian JS, Hu JH, et al. Epidemiological, clinical and virological characteristics of 74 cases of coronavirus-infected disease 2019 (COVID-19) with gastrointestinal symptoms. *Gut* 2020; 69: 1002-9.
- Sultan S, Altayar O, Siddique S, et al. AGA Institute rapid review of the GI and liver manifestations of COVID-19, meta-analysis of international data, and recommendations for the consultative management of patients with COVID-19. *Gastroenterology* 2020; 159: 320-34.e27.
- Parasa S, Desai M, Thoguluva Chandrasekar V, et al. Prevalence of gastrointestinal symptoms and fecal viral shedding in patients with coronavirus disease 2019: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Netw Open* 2020; 3: e2011335.
- D'Amico F, Baumgart DC, Danese S, et al. Diarrhea during COVID-19 infection: pathogenesis, epidemiology, prevention and management. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2020; 18: 1663-72.
- Aroniadis OC, DiMaio CJ, Dixon RE, et al. Current knowledge and research priorities in the digestive manifestations of COVID-19. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2020; 18: 1682-4.
- Redd WD, Zhou JC, Hathorn KE, et al. Prevalence and characteristics of gastrointestinal symptoms in patients with SARS-CoV-2 infection in the United States: a multicenter cohort study. *Gastroenterology* 2020; 159: 765-7.e2.
- Hajifathalian K, Krisko T, Mehta A, et al. Gastrointestinal and hepatic manifestations of 2019 novel coronavirus disease in a large cohort of infected patients from New York: clinical implications. *Gastroenterology* 2020; 159: 1137-40.e2.
- Zhang C, Shi L, Wang FS. Liver injury in COVID-19: management and challenges. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2020; 5: 428-30.
- Pan L, Yang P, Sun Y, et al. Clinical characteristics of COVID-19 patients with digestive symptoms in Hubei, China: a descriptive, cross-sectional, multicenter study. *Am J Gastroenterol* 2020; 115: 766-73.
- Wei XS, Wang X, Niu YR, et al. Diarrhea is associated with prolonged symptoms and viral carriage in COVID-19. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2020; 18: 1753-9.e2.
- Mao R, Qiu Y, He JS. Manifestations and prognosis of gastrointestinal and liver involvement in patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2020; 5: 667-78.
- Cheung KS, Hung IFN, Chan PPY, et al. Gastrointestinal manifestations of SARS-CoV-2 infection and virus load in fecal samples from a Hong Kong Cohort: systematic review and meta-analysis. *Gastroenterology* 2020; 159: 81-95.
- Tariq R, Saha S, Furqan F, et al. Prevalence and mortality of COVID-19 patients with gastrointestinal symptoms: a systematic review and meta-analysis. *Mayo Clin Proc* 2020; 95: 1632-48.

24. Elmunzer BJ, Spitzer RL, Foster LD, et al. Digestive manifestations in patients hospitalized with coronavirus disease 2019. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2021; 19: 1355-65.
25. Gill SR. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science* 2006; 312: 1355-59.
26. Villanueva-Millán MJ, Pérez-Matute P, Oteo JA. Gut microbiota: a key player in health and disease. A review focused on obesity. *J Physiol Biochem* 2015; 71: 509-25.
27. Bingula R. Desired turbulence? Gut-lung axis, immunity, and lung cancer. *J Oncol* 2017; 2017: 5035371.
28. Zhang D. The cross-talk between gut microbiota and lungs in common lung diseases. *Front Microbiol* 2020; 11: 301.
29. Keely S, Talley NJ, Hansbro PM. Pulmonary-intestinal cross-talk in mucosal inflammatory disease. *Mucosal Immunol* 2012; 5: 7-18.
30. Dumas A. The role of the lung microbiota and the gut-lung axis in respiratory infectious diseases. *Cell Microbiol* 2018; 20: e12966.
31. Groves HT. Respiratory viral infection alters the gut microbiota by inducing inappetence. *mBio* 2020; 11: e03236-19.
32. Lake MA. What we know so far: COVID-19 current clinical knowledge and research. *Clin Med* 2020; 20: 124-7.
33. Dickson RP, Arbor A. The microbiome and critical illness. *Lancet Respir Med* 2017; 4: 59-72.
34. Mosca A, Leclerc M, Hugot JP. Gut microbiota diversity and human diseases: should we reintroduce key predators in our ecosystem? *Front Microbiol* 2016; 7: 455.
35. Nagpal R. Gut microbiome and aging: physiological and mechanistic insights. *Nutr Healthy Aging* 2018; 4: 267-85.
36. Ivanov II, Honda K. Intestinal commensal microbes as immune modulators. *Cell Host Microbe* 2012; 12: 496-508.
37. Rooks MG, Garrett WS. Gut microbiota, metabolites and host immunity. *Nat Rev Immunol* 2016; 16: 341-52.
38. Gill HS. Enhancement of immunity in the elderly by dietary supplementation with the probiotic *Bifidobacterium lactis* HN019. *Am J Clin Nutr* 2001; 74: 833-9.
39. Fagundes CT. Transient TLR activation restores inflammatory response and ability to control pulmonary bacterial infection in Germfree mice. *J Immunol* 2012; 188: 1411-20.
40. West CE. Bugging allergy; role of pre-, pro- and synbiotics in allergy prevention. *Allergol Int* 2017; 66: 529-38.
41. Feleszko W. Probiotic-induced suppression of allergic sensitization and airway inflammation is associated with an increase of T regulatory-dependent mechanisms in a murine model of asthma. *Clin Exp Allergy* 2007; 37: 498-505.
42. Hashimoto T, Perlot T, Rehman A, et al. ACE2 links amino acid malnutrition to microbial ecology and intestinal inflammation. *Nature* 2012; 487: 477-81.
43. Akiho H, Ihara E, Nakamura K. Low-grade inflammation plays a pivotal role in gastrointestinal dysfunction in irritable bowel syndrome. *World J Gastrointest Pathophysiol* 2010; 1: 97-105.
44. Zoufaly A, Poglitsch M, Aberle JH, et al. Human recombinant soluble ACE2 in severe COVID-19. *Lancet Respir Med* 2020; 8: 1154-8.
45. Gu T, Zhao S, Jin G, et al. Cytokine signature induced by SARS-CoV-2 spike protein in a mouse model. *Front Immunol* 2021; 11: 621441.
46. Hojyo S, Uchida M, Tanaka K, et al. How COVID-19 induces cytokine storm with high mortality. *Inflamm Regen* 2020; 40: 37.
47. Xu Z, Shi L, Wang Y, et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome [published correction appears in *Lancet Respir Med*. 2020 Feb 25]. *Lancet Respir Med* 2020; 8: 420-2.
48. Qin C, Zhou L, Hu Z, et al. Dysregulation of immune response in patients with coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clin Infect Dis* 2020; 71: 762-8.
49. Park WB, Kwon NJ, Choi SJ, et al. Virus isolation from the first patient with SARS-CoV-2 in Korea. *J Korean Med Sci* 2020; 35: e84.
50. Eder P, Łodyga M, Dobrowolska A, et al. Addressing multiple gastroenterological aspects of coronavirus disease 2019. *Pol Arch Intern Med* 2020; 130: 420-30.
51. Livanos AE, Jha D, Cossarini F, et al. Gastrointestinal involvement attenuates COVID-19 severity and mortality. *medRxiv* 2020; 2020.09.07.20187666.

Received: 18.12.2021

Accepted: 27.12.2021

11. Bibliografia:

1. Baloch S, Baloch M, Zheng T, et al. The Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Pandemic. *Tohoku J Exp Med.* 2020; 250: 271-278.
2. Cheung K, Hung I, Chan P, et al. Gastrointestinal Manifestations of SARS-CoV-2 Infection and Virus Load in Fecal Samples From a Hong Kong Cohort: Systematic Review and Meta-analysis. *Gastroenterology.* 2020; 159: 81-95.
3. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Case definition and European surveillance for COVID-19, as of 2 March 2020. <https://www.ecdc.europa.eu/en/case-definition-and-european-surveillance-human-infection-novel-coronavirus-2019-ncov>. Accessed April 28, 2020.
4. Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020; 395: 497–506.
5. Chen N, Zhou M, Dong X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet.* 2020; 395: 507-513.
6. Guan W, Ni Z, Hu Y, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med.* 2020; 382: 1708-1720.
7. Wiersinga W, Rhodes A, Cheng A, et al. Pathophysiology, Transmission, Diagnosis, and Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review. *JAMA.* 2020; 324: 782-793.
8. Jayk Bernal A, Gomes da Silva MM, Musungaie DB, et al. Molnupiravir for Oral Treatment of Covid-19 in Nonhospitalized Patients [published online ahead of print, 2021 Dec 16]. *N Engl J Med.* 2021;NEJMoa2116044. doi:10.1056/NEJMoa2116044
9. Mahase E. Covid-19: Pfizer's paxlovid is 89% effective in patients at risk of serious illness, company reports. *BMJ.* 2021;375:n2713. Published 2021 Nov 8. doi:10.1136/bmj.n2713
10. Tworek A, Jaroń K, Uszyńska-Kałuża B, et al. Convalescent plasma treatment is associated with lower mortality and better outcomes in high-risk COVID-19 patients - propensity-score matched case-control study. *Int J Infect Dis.* 2021; 105: 209-215.
11. Cascella M, Rajnik M, Cuomo A, et al. Features, Evaluation, and Treatment of Coronavirus (COVID-19) [Updated 2020 Aug 10]. In: StatPearls [Internet].

- Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554776/>.
12. Zhou P, Yang X, Wang X, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020; 579, 270–273.
 13. Wrapp D, Wang N, Corbett K, et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science*. 2020; 367: 1260-1263.
 14. Xiao F, Tang M, Zheng X, et al. Evidence for gastrointestinal infection of SARS-CoV-2. *Gastroenterology*. 2020; 158: 1831-1833.
 15. Gu J, Han B, Wang J. COVID-19: gastrointestinal manifestations and potential fecal-oral transmission. *Gastroenterology*. 2020; 158: 1518-1519.
 16. Chai X, Hu L, Zhang Y, et al. Specific ACE2 expression in cholangiocyte may cause liver damage after 2019-nCoV infection. Preprint. Posted online February 3, 2020. bioRxiv 931766.
 17. Zou X, Chen K, Zou J, et al. Single-cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection. *Front Med*. 2020; 14: 185-192.
 18. Luo S, Zhang X, Xu H. Don't overlook digestive symptoms in patients with 2019 novel coronavirus disease (COVID-19). *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2020; 18, 1636-1637.
 19. Harmer D, Gilbert M, Borman R, et al. Quantitative mRNA expression profiling of ACE2, a novel homologue of angiotensin converting enzyme. *FEBS Lett*. 2002; 532: 107-110.
 20. Monteleone G, Ardizzone S. Are patients with inflammatory bowel disease at increased risk for COVID-19 infection? *J Crohns Colitis*. 2020; 14, 1334-1336.
 21. Du M, Cai G, Chen F, et al. Multiomics evaluation of gastrointestinal and other clinical characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Gastroenterology*. 2020; 158, 2298-2301.
 22. Huang J, Hume A, Abo K, et al. SARS-CoV-2 Infection of Pluripotent Stem Cell-Derived Human Lung Alveolar Type 2 Cells Elicits a Rapid Epithelial-Intrinsic Inflammatory Response. *Cell Stem Cell*. 2020; 27: 962-973.
 23. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*. 2020; 181: 271-280.

24. Livanos A, Jha D, Cossarini F, et al. Gastrointestinal involvement attenuates COVID-19 severity and mortality. Preprint. *medRxiv*. 2020;2020.09.07.20187666. Published 2020 Nov 11.
25. Krzysztof B, Osvaldo E, Raquel M, et al. Lack of Association of Genetic Markers with Progression of Crohn's Disease. *Inflammatory Bowel Diseases*. 2014; 20, 103.
26. Burgueno J, Reich A, Hazime H, et al. Expression of SARS-CoV-2 entry molecules ACE2 and TMPRSS2 in the gut of patients with IBD. *Inflammatory bowel diseases*. 2020; 26(6), 797-808.
27. Hashimoto T, Perlot T, Rehman A, et al. ACE2 links amino acid malnutrition to microbial ecology and intestinal inflammation. *Nature*. 2020; 487, 477–481.
28. Kim J, Lee J, Yang J, et al. Immunopathogenesis and treatment of cytokine storm in COVID-19. *Theranostics*. 2021; 11: 316-329.
29. Ragab D, Salah Eldin H, Taeimah M, et al. The COVID-19 Cytokine Storm; What We Know So Far. *Front Immunol*. 2020; 11: 1446.
30. Gu S, Tyagi T, Jain K, et al. Thrombocytopeny and endotheliopathy: crucial contributors to COVID-19 thromboinflammation. *Nat Rev Cardiol*. 2021; 18: 194-209.
31. Hojyo S, Uchida M, Tanaka K, et al. How COVID-19 induces cytokine storm with high mortality. *Inflamm Regen*. 2020; 40: 37.
32. Xu Z, Shi L, Wang Y, et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *The Lancet*. 2020; 8, 420–422.
33. Qin C, Zhou L, Hu Z, et al. Dysregulation of immune response in patients with coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clinical Infectious Diseases*. 2020; 71: 762–768.
34. Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020; 395: 497–506.
35. Merad M, Martin JC. Pathological inflammation in patients with COVID-19: a key role for monocytes and macrophages. *Nat Rev Immunol*. 2020; 20: 355–362.
36. Levi M, Nieuwdorp M, van der Poll T, et al. Metabolic modulation of inflammation-induced activation of coagulation. *Semin Thromb Hemost*. 2008; 34: 26–32.

37. Liu PP, Blet A, Smyth D, et al. The science underlying COVID-19: implications for the cardiovascular system. *Circulation*. 2020; 142: 68–78.
38. Tang N, Bai H, Chen X, et al. Anticoagulant treatment is associated with decreased mortality in severe coronavirus disease 2019 patients with coagulopathy. *J Thromb Haemost*. 2020; 18: 1094–1099.
39. Park W, Kwon N, Choi S, et al. Virus isolation from the first patient with SARS-CoV-2 in Korea. *J Korean Med Sci*. 2020; 35: e84.
40. Zuo T, Zhang F, Lui GCY, et al. Alterations in Gut Microbiota of Patients With COVID-19 During Time of Hospitalization. *Gastroenterology*. 2020; 159: 944-955.
41. Looft, Torey, and Heather K Allen. “Collateral effects of antibiotics on mammalian gut microbiomes.” *Gut microbes*. 2012; 3: 463-467.
42. Trompette A, Gollwitzer E, Pattaroni C, et al. Dietary Fiber Confers Protection against Flu by Shaping Ly6c⁺ Patrolling Monocyte Hematopoiesis and CD8⁺ T Cell Metabolism. *Immunity*. 2018; 48: 992-1005.
43. Feleszko W, Jaworska J. Prebiotics and probiotics for the prevention or treatment of allergic asthma. *Bioactive Foods in Promoting Health*. Academic Press, 2010; 3: 159-169.
44. Kukla M, Adrych K, Dobrowolska A, et al. Guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults. *Prz Gastroenterol*. 2020; 15: 1-21.
45. Depestel D, Aronoff D. Epidemiology of *Clostridium difficile* infection. *J Pharm Pract*. 2013; 26: 464-475.
46. Jordan R, Adab P, Cheng K. COVID-19: risk factors for severe disease and death. *BMJ*. 2020; 368: 1198.
47. Sandhu A, Tillotson G, Polistico J, et al. *Clostridioides difficile* in COVID-19 patients, Detroit, Michigan, USA, March–April 2020. *Emerg Infect Dis*. 2020; 26: 2272-2274.
48. Ponce-Alonso M, Saez de la Fuente J, Rincon-Carlavilla A, et al. Impact of the coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic on nosocomial *Clostridioides difficile* infection. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2020 Sep 8. [Epub ahead of print].
49. Luo Y, Grinspan LT, Fu Y, et al. Hospital-onset *Clostridioides difficile* infections during the COVID-19 pandemic. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2020 Sep 23. [Epub ahead of print].

50. Mitchell B, Hall L, White N, et al. An environmental cleaning bundle and health-care-associated infections in hospitals (REACH): a multicentre, randomised trial. *Lancet Infect Dis.* 2019; 19: 410-418.
51. McDonald E, Dendukuri N, Frenette C, et al. Time-series analysis of health care-associated infections in a new hospital with all private rooms. *JAMA Intern Med.* 2019; 179: 1501-1506.
52. Molina J, Delaugerre C, Goff JL, et al. No evidence of rapid antiviral clearance or clinical benefit with the combination of hydroxychloroquine and azithromycin in patients with severe COVID-19 infection. *Med Mal Infect.* 2020; 50: 384.
53. Cao B, Wang Y, Wen D, et al. A trial of lopinavir-ritonavir in adults hospitalized with severe Covid-19. *N Engl J Med.* 2020; 382: 1787-1799.
54. Cortegiani A, Ingoglia G, Ippolito M, et al. A systematic review on the efficacy and safety of chloroquine for the treatment of COVID-19. *J Crit Care.* 2020; 57: 279-283.
55. Lesley J. Tocilizumab: a review in rheumatoid arthritis drugs. *Drugs.* 2017; 77: 1865-1879.
56. Grein J, Ohmagari N, Shin D, et al. Compassionate use of remdesivir for patients with severe COVID-19. *N Engl J Med.* 2020; 3: 320-322.
57. Wan Y, Li J, Shen L, et al. Enteric involvement in hospitalised patients with COVID-19 outside Wuhan. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2020; 6: 534-535.

12. Opinia Komisji Bioetycznej:



**Komisja Etyki i Nadzoru nad Badaniami na Ludziach i Zwierzętach
przy Centralnym Szpitalu Klinicznym MSWiA w Warszawie**

ul. Wołoska 137, 02-507 Warszawa

email: komisja.etyki@cskmswia.pl tel. +48-22-5081681 fax. +48-22-5081881

Przewodniczący Komisji: prof. dr hab.n.med. Robert J. Gil

DECYZJA NR 108/2020

z dn. 01.07.2020r.

Komisja Etyki i Nadzoru nad Badaniami na Ludziach i Zwierzętach przy CSK MSWiA w Warszawie na posiedzeniu w dniu **01 lipca 2020 r.**

- zapoznała się z projektem badania pt.

„Infekcja Clostridioides difficile w zakażeniu SARS CoV-2”

którego współbadaczami badania są:

lek. Konrad Lewandowski

lek. Magdalena Kaniewska

lek. Piotr Kucha

mgr Anna Meller

dr n. med. Mariusz Rosołowski

prof. nadzw. dr hab. n. med. Waldemar Wierzbza

prof. dr hab. n. med. Grażyna Rydzewska

Klinika Chorób Wewnętrznych i Gastroenterologii CSK MSWiA w Warszawie

dotyczących: - wniosek o wyrażenie zgody na przeprowadzenie projektu badawczego

Po zapoznaniu się z całością dokumentacji* zgodnie z zasadami ICH-GCP Komisji Bioetycznej CSK MSWiA w Warszawie

-wyraziła zgodę na przeprowadzenie badania klinicznego zgodnie z przedstawionym protokołem

Warszawa, 08.07.2020 r.

Przewodniczący Komisji Etyki

na Ludziach i Zwierzętach
Centralnego Szpitala Klinicznego MSWiA
Warszawa ul. Wołoska 137

prof. dr hab. n. med. Robert J. Gil



**Komisja Etyki i Nadzoru nad Badaniami na Ludziach i Zwierzętach
przy Centralnym Szpitalu Klinicznym MSWiA w Warszawie**

ul. Wołoska 137, 02-507 Warszawa

email: komisja.etyki@cskmswia.pl tel. +48-22-5081681 fax. +48-22-5081881

Przewodniczący Komisji: prof. dr hab.n.med. Robert J. Gil

***Do Komisji Etycznej wpłynęły następujące dokumenty:**

1. Wniosek do Komisji Bioetycznej
2. Podanie do Dyrekcji CSK MSWiA (zgoda)
3. Protokół badania
4. Streszczenie Protokołu

Skład Komisji Etyki i Nadzoru nad Badaniami na Ludziach i Zwierzętach

Przewodniczący:

prof. dr hab. n. med. Robert Gil

Z-ca przewodniczącego:

ks. Dariusz Cempura

Członkowie:

prof. dr hab. n. med. Edward Franek
prof. dr hab. n. med. Michał Powolny
prof. dr hab. n. med. Piotr Andziak
dr n. med. Małgorzata Dorobek
prof. dr hab. n. med. Andrzej Rydzewski
prof. dr hab. n. med. Grażyna Rydzewska- Wyszowska
dr n. med. Jolanta Kołakowska
dr hab. n. o zdr. Adam Fronczak
mgr farm. Irena Szoszkiewicz
mec. Jarosław Kocznur
piel. lic. Bożenna Majewska

PRZEWODNICZĄCY
Komisji Etyki i Nadzoru nad Badaniami
na Ludziach i Zwierzętach
Centralnego Szpitala Klinicznego MSWiA
Warszawa, ul. Wołoska 137
prof. dr hab. n. med. Robert Gil



**Komisja Etyki i Nadzoru nad Badaniami na Ludziach i Zwierzętach
przy Centralnym Szpitalu Klinicznym MSWiA w Warszawie**

ul. Wołoska 137, 02-507 Warszawa
email: komisja.etyki@cskmswia.pl tel. +48-22-5081681 fax. +48-22-5081881
Przewodniczący Komisji: prof. dr hab.n.med. Robert J. Gil

zat 2.

Komisja Etyki i Nadzoru nad Badaniami
na Ludziach i Zwierzętach
przy Centralnym Szpitalu Klinicznym MSWiA
w Warszawie
02-507 Warszawa, ul. Wołoska 137
(1)

Informacja

Posiedzenie Komisji Bioetycznej przy CSK MSWiA w Warszawie w dniu 01.07.2020r.
odbyło się w tzw. formie hybrydowej. Obecni na sali posiedzenia byli:

- Prof. Robert J. Gil
- Mec. Jarosław Koczur

Natomiast łączyli się on-line:

- Ksiądz Dariusz Cempura
- Dr hab.med. Małgorzata Dorobek
- Prof. Michał Powolny
- Lek.med. Jolanta Kołakowska
- Prof. Grażyna Rydzewska
- Prof. Andrzej Rydzewski
- Dr hab.med. Adam Fronczak
- Piel. Bożena Majewska

Głosowanie odbyło się w oparciu o system internetowy (www.interaankietv.pl)
umożliwiający tajne oddawanie głosów. Wydanie stosownych ankiet dołączone do aktualnego
posiedzenia.

Prof. Grażyna Rydzewska jako Koordynator swoich Badań wykluczyła się z głosowania

Przewodniczący Komisji Etyki
Komisji Etyki i Nadzoru nad Badaniami
na Ludziach i Zwierzętach
Centralnego Szpitala Klinicznego MSWiA
Warszawa, ul. Wołoska 137
Prof. dr hab. n. med. Robert Gil
prof. dr hab. n. med. Robert Gil

13. Oświadczenia współautorów publikacji określające indywidualny wkład (udział merytoryczny i procentowy) każdego z nich w ich powstanie:

Warszawa, dn. 11 lutego 2022 roku

lek. Konrad Lewandowski

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Gastrointestinal symptoms in patients with coronavirus 2019 (COVID-19) – friend or foe?” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: przygotowanie koncepcji, metodyki, zbieranie danych, interpretacji wyników oraz napisanie manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 75%, obejmował on: przygotowanie koncepcji, metodyki, zbieranie danych, interpretacji wyników oraz napisanie manuskryptu.

por. Konrad Lewandowski
lek. med.
28.02.2022



Warszawa, dn. 11 lutego 2022 roku

dr n. med. Magdalena Kaniewska

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Gastrointestinal symptoms in patients with coronavirus 2019 (COVID-19) – friend or foe?” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: zbieranie danych.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 5%.

Wkład lek. Konrada Lewandowskiego w powstawanie publikacji określam jako 75%, obejmował on: przygotowanie koncepcji, metodyki, zbieranie danych, interpretacji wyników oraz napisanie manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Konrad Lewandowski.

Magdalena Kaniewska

Warszawa, dn. 11 lutego 2022 roku

dr n. med. Mariusz Rosołowski

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Gastrointestinal symptoms in patients with coronavirus 2019 (COVID-19) – friend or foe?” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: przygotowanie koncepcji i metodyki.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 5%.
Wkład lek. Konrada Lewandowskiego w powstanie publikacji określam jako 75%, obejmował on: przygotowanie koncepcji, metodyki, zbieranie danych, interpretacji wyników oraz napisanie manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lek. Konrada Lewandowskiego.

Mariusz Rosołowski

Warszawa, dn. 11 lutego 2022 roku

lek. Adam Tworek

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Gastrointestinal symptoms in patients with coronavirus 2019 (COVID-19) – friend or foe?” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: zbieranie danych.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 5%.
Wkład lek. Konrada Lewandowskiego w powstawanie publikacji określam jako 75%, obejmował on: przygotowanie koncepcji, metodyki, zbieranie danych, interpretacji wyników oraz napisanie manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Konrad Lewandowski.

Adam Tworek
.....

Warszawa, dn. 11 lutego 2022 roku

prof. dr hab. n. med. Grażyna Rydzewska

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Gastrointestinal symptoms in patients with coronavirus 2019 (COVID-19) – friend or foe?” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: przygotowanie koncepcji, metodyki i nadzór merytoryczny.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 10%.
Wkład lek. Konrada Lewandowskiego w powstawanie publikacji określam jako 60%, obejmował on: przygotowanie koncepcji, metodyki, zbieranie danych, interpretację wyników oraz napisanie manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lek. Konrada Lewandowskiego.

KIEROWNIK
Katedry Chorób Wewnętrznych i Gastroenterologii
Centralnego Szpitala Klinicznego MSW
w Warszawie

.....lek. dr hab. n. med. Grażyna Rydzewska.....

Warszawa, dn. 11 lutego 2022 roku

lek. Konrad Lewandowski

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „*Clostridioides difficile* infection in coronavirus disease 2019 (COVID-19): an underestimated problem?” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: przygotowanie koncepcji, metodyki, zbieranie danych, interpretacji wyników oraz napisanie manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 60 %, obejmował on: przygotowanie koncepcji, metodyki, zbieranie danych, interpretacji wyników oraz napisanie manuskryptu.

por. Konrad Lewandowski
lekarz
705717



Warszawa, dn. 11 lutego 2022 roku

dr n. med. Mariusz Rosołowski

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „*Clostridioides difficile* infection in coronavirus disease 2019 (COVID-19): an underestimated problem?” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: przygotowanie koncepcji i metodyki.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 10%.

Wkład lek. Konrada Lewandowskiego w powstawanie publikacji określam jako 60%, obejmował on: przygotowanie koncepcji, metodyki, zbieranie danych, interpretację wyników oraz napisanie manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie ww. pracy jako części rozprawy doktorskiej lek. Konrada Lewandowskiego.


.....

Warszawa, dn. 11 lutego 2022 roku

dr n. med. Magdalena Kaniewska

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „*Clostridioides difficile* infection in coronavirus disease 2019 (COVID-19): an underestimated problem?” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: zbieranie danych.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 5%.
Wkład lek. Konrada Lewandowskiego w powstanie publikacji określam jako 60%, obejmował on: przygotowanie koncepcji, metodyki, zbieranie danych, interpretacji wyników oraz napisanie manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Konrad Lewandowski.

.....
Magdalena Kaniewska

Warszawa, dn. 11 lutego 2022 roku

lek. Piotr Kucha

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „*Clostridioides difficile* infection in coronavirus disease 2019 (COVID-19): an underestimated problem?” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: zbieranie danych.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 5%.
Wkład lek. Konrada Lewandowskiego w powstawanie publikacji określam jako 60%, obejmował on: przygotowanie koncepcji, metodyki, zbieranie danych, interpretacji wyników oraz napisanie manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Konrad Lewandowski.

.....Piotr Kucha.....

Warszawa, dn. 11 lutego 2022 roku

mgr Anna Meller

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „*Clostridioides difficile* infection in coronavirus disease 2019 (COVID-19): an underestimated problem?” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: zbieranie danych.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 5%.
Wkład lek. Konrada Lewandowskiego w powstawanie publikacji określam jako 60%, obejmował on: przygotowanie koncepcji, metodyki, zbieranie danych, interpretacji wyników oraz napisanie manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Konrad Lewandowski.

..... Anna Meller

Warszawa, dn. 11 lutego 2022 roku

prof. nadzw. dr hab. n. med. Waldemar Wierzba

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „*Clostridioides difficile* infection in coronavirus disease 2019 (COVID-19): an underestimated problem?” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: przygotowanie metodyki.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 5%.
Wkład lek. Konrada Lewandowskiego w powstawanie publikacji określam jako 60%, obejmował on: przygotowanie koncepcji, metodyki, zbieranie danych, interpretację wyników oraz napisanie manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lek. Konrada Lewandowskiego.



.....

Warszawa, dn. 11 lutego 2022 roku

prof. dr hab. n. med. Grażyna Rydzewska

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „*Clostridioides difficile* infection in coronavirus disease 2019 (COVID-19): an underestimated problem?” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: przygotowanie koncepcji, metodyki i nadzór merytoryczny.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 10%.

Wkład lek. Konrada Lewandowskiego w powstawanie publikacji określam jako 60%, obejmował on: przygotowanie koncepcji, metodyki, zbieranie danych, interpretację wyników oraz napisanie manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lek. Konrada Lewandowskiego.

K I E R O W N I K
Kliniki Chorób Wewnętrznych i Gastroenterologii
Centralnego Szpitala Klinicznego MSW
w Warszawie

prof. dr hab. n. med. Grażyna Rydzewska

Warszawa, dn. 11 lutego 2022 roku

lek. Konrad Lewandowski

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Gastrointestinal symptoms in COVID-19” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: przygotowanie koncepcji, metodyki, zbieranie danych, interpretacji wyników oraz napisanie manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 80%, obejmował on: przygotowanie koncepcji, metodyki, zbieranie danych, interpretacji wyników oraz napisanie manuskryptu.

por. Konrad Lewandowski
lekarz
2875717



Warszawa, dn. 11 lutego 2022 roku

dr n. med. Magdalena Kaniewska

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Gastrointestinal symptoms in COVID-19” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: zbieranie danych.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 5%.
Wkład lek. Konrada Lewandowskiego w powstawanie publikacji określam jako 80%, obejmował on: przygotowanie koncepcji, metodyki, zbieranie danych, interpretacji wyników oraz napisanie manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Konrad Lewandowski.

Magdalena Kaniewska

Warszawa, dn. 11 lutego 2022 roku

dr n. med. Mariusz Rosołowski

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Gastrointestinal symptoms in COVID-19” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: przygotowanie koncepcji i metodyki.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 5%.

Wkład lek. Konrada Lewandowskiego w powstawanie publikacji określam jako 80%, obejmował on: przygotowanie koncepcji, metodyki, zbieranie danych, interpretację wyników oraz napisanie manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lek. Konrada Lewandowskiego.

Mariusz Rosołowski

Warszawa, dn. 11 lutego 2022 roku

prof. dr hab. n. med. Grażyna Rydzewska

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Gastrointestinal symptoms in COVID-19” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: przygotowanie koncepcji, metodyki i nadzór merytoryczny.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 10%.

Wkład lek. Konrada Lewandowskiego w powstawanie publikacji określam jako 80%, obejmował on: przygotowanie koncepcji, metodyki, zbieranie danych, interpretację wyników oraz napisanie manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lek. Konrada Lewandowskiego.

KIEROWNIK
Kliniki Chorób Wewnętrznych i Gastroenterologii
Centralnego Szpitala Klinicznego MSW
w Warszawie

prof. dr hab. n. med. Grażyna Rydzewska