



Diagnostic des infections à *Clostridium difficile* (ICD) : quand et comment ?

Frédéric Barbut

Laboratoire *C. difficile* associé au CNR des Anaérobies
AP-HP, Hôpital Saint-Antoine,
Université Pierre et Marie Curie
Paris, France



Déclaration d'intérêts de 2012 à 2014

- Intérêts financiers : non
- Liens durables ou permanents : non
- Interventions ponctuelles : Astellas, Sanofi Pasteur, bioMérieux, Cepheid
- Intérêts indirects : invitation à des congrès scientifiques (Astellas, MSD)

Poids des ICD en Europe et aux Etats-Unis

Etats-Unis



- 453 000 ICD/an¹
- 29 500 décès
- 1^{er} agent responsable d'IAS (12.5%)²
- Menace urgente (CDC)

Europe



- 172 000 ICD/an
- Mortalité : 9%
- 8^{ème} agent responsable d'IAS (5.4%)²

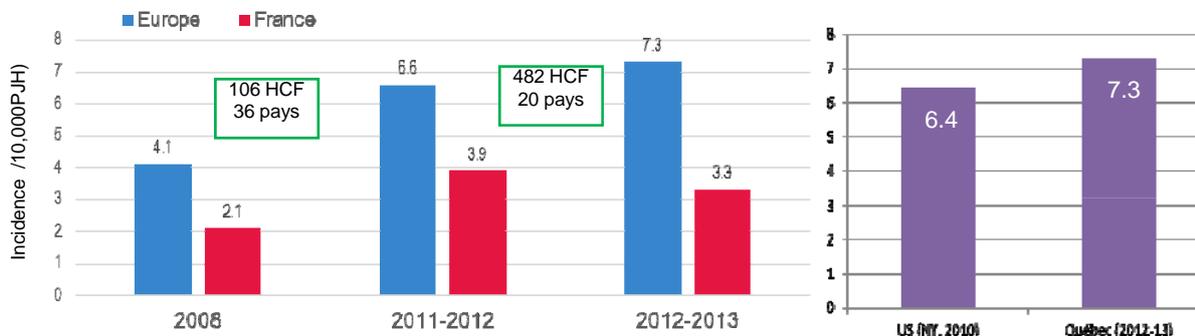
16^{ème} JNI, Nancy, du 10 au 12 juin 2015

¹Lessa, NEJM 2015, 372, 825; ² Magill SS, NEJM 2014; 370, 1198-208: <http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/publications/healthcare-associated-infections-antimicrobial-use-pps.pdf>

L'incidence des ICD continue d'augmenter

L'incidence augmente en Europe 1-4, 6-7

- Cette tendance coïncide avec l'émergence du clone NAP1/027/BI
- Certains pays constatent une diminution de l'incidence et de la prévalence du 027 (UK, Belgique)⁵



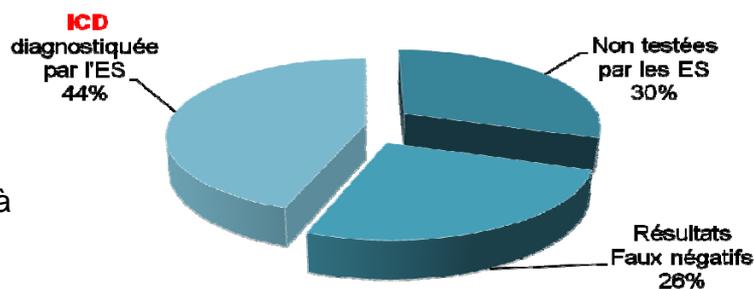
16^{ème} JNI, Nancy, du 10 au 12 juin 2015

1. Lyytikäinen et al. Emerg Infect Dis 2009;15:761-5;
 2. Sees et al. Euro Surveill 2009;14:pii19176;
 3. Soler et al. Infect Control Hosp Epidemiol 2008;29:887-9;

4. Vonberg et al. Emerg Infect Dis 2007;13:179-80;
 5. Health Protection Agency, 2011;
 6- Bauer et al. Lancet 2011;377:63-73.
 7. Davies, Lancet Inf. Dis 2014, 14, 1208-19
 8-Barbut F. Presse médicale 2015 Apr;44(4 Pt 1):e75-83

Le sous-diagnostic des ICD est majeur en France

- Etude EUCLID 2012/13 : prévalence de *C. difficile* dans toutes les selles diarrhéiques envoyées au laboratoire, indépendamment de la demande du clinicien
- Analyse de 651 selles (70 ES) par le CNR
- 9.7% des échantillons positifs à *C. difficile* toxigène
- 55.6% des ICD NON diagnostiquées par l'ES



16th JNl, Nancy, du 10 au 12 juin 2015

Barbut F. Presse médicale 2015 Apr;44(4 Pt 1):e75-83

Les infections communautaires à *C. difficile* sont en augmentation¹

- 12 714 selles diarrhéiques (prescrites par MG)
 - 1.5% positives en culture toxigène (0.67 /10000pts/année)
 - 7% de demande de CD par le MG → 40% des ICD
- Performance (coût-efficacité) des algorithmes de diagnostic pour les diarrhées d'origine communautaire

Critères pour la recherche de <i>C. difficile</i>	Pays	Fréquence de selles testées	Fréquence de résultats positifs	% d'ICD détectées (par rapport à une recherche systématique)
> 65 ans ou ATCD d'ATB ou hospitalisation	UK 2012	31	3.5	72
ATCD d'ATB ou hospitalisation	Pays Bas (recommandations)	18	5	61

16th JNl, Nancy, du 10 au 12 juin 2015

1. Hensgens et al CID 2014, 2014 Dec;20(12):O1067-74

Recommandations



REVIEW 10.1115.1469-5691.2009.03056.x

European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): Data review and recommendations for diagnosing *Clostridium difficile*-infection (CDI)

M. J. T. Crobach¹, O. M. Dekkers², M. H. Wilcox³ and E. J. Kuijper⁴

2009
Révision en préparation



SHEA-IDS A GUIDELINE

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)

Stuart H. Cohen, MD; Dale N. Gerding, MD; Stuart Johnson, MD; Claran P. Kelly, MD; Vivian G. Loo, MD; L. Clifford McDonald, MD; Jacques Pepin, MD; Mark H. Wilcox, MD

2010



A Practical Guidance Document for the Laboratory Detection of Toxigenic *Clostridium difficile* September 21, 2010"

The American Journal of Gastroenterology **108**, 478-498 (April 2013) | doi



Guidelines for Diagnosis, Treatment, and Prevention of *Clostridium difficile* Infections



CLINICAL GUIDELINES

Australasian Society for Infectious Diseases guidelines for the diagnosis and treatment of *Clostridium difficile* infection

Allen C Cheng, John K Ferguson, Michael J Richards, Jennifer M Robson, Gwendolyn L Gilbert, Alistair McGregor, Sally Roberts, Tony M Korman and Thomas V Riley

2011

16th JNI, Nancy, du 10 au 12 juin 2015

Diagnostic microbiologique

REVIEW 10.1115.1469-5691.2009.03056.x

European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): Data review and recommendations for diagnosing *Clostridium difficile*-infection (CDI)

M. J. T. Crobach¹, O. M. Dekkers², M. H. Wilcox³ and E. J. Kuijper⁴



- Une ICD est définie par “(i) un tableau clinique compatible avec une ICD et la mise en évidence microbiologique d’un *C. difficile* producteur de toxines dans les selles en l’absence d’autre cause évidente de diarrhée ou (ii) une colite pseudomembraneuse”

16th JNI, Nancy, du 10 au 12 juin 2015

Recommandations générales

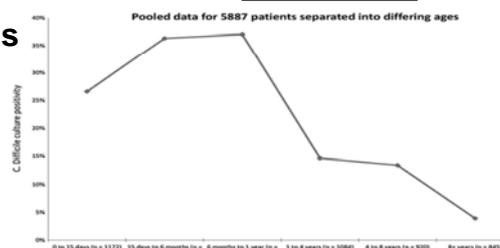
1. Seules les selles diarrhéiques doivent être testées

- Laboratoire : selles prenant l'aspect du récipient
- Patient diarrhéique :
 - Aspect 5, 6, 7 on Bristol scale
 - ≥ 3 selles par 24 h ou moins ou émissions plus fréquente que d'habitude (definition OMS)



2. Ne pas tester les selles des enfants de < 3 ans

- Colonisation asymptomatique fréquente chez les nouveaux nés (6 mois -1 an).
- Le portage diminue progressivement
- Ne rechercher que sur demande du clinicien



Recommandations générales

3- Ne pas répéter les tests

- Pratique fréquente (13% des EIA négatifs testés deux fois sur une période de 7 jours) et coûteuse¹
- Gain diagnostic faible (résultat négatif qui devient positif)
- Répéter un test peut conduire à un résultat faux positif (défaut de spécificité)³

Auteurs	Technique	Patients (n)	Gain diagnostique
Aichinger et al. 2008 ¹	EIA A + B,	5,788	1.9% (7 days)
	PCR	2,827	1.7% (7 days)
Renshaw et al. 1996 ²	CTA	2,009	1%

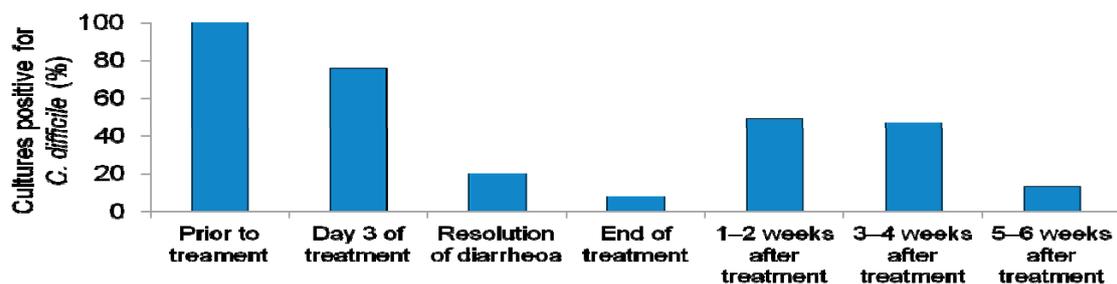
1. Aichinger et al. J Clin Microbiol 2008;46:3795-7;
 2. Renshaw et al. Arch Pathol Lab Med 1996;120:49-52;
 3. Litvin et al. Infect Control Hosp Epidemiol 2009;30:1166-71.

EIA, enzyme immunoassay;
 CTA, cytotoxicity assay;
 PCR, polymerase chain reaction

Recommandations générales

4. Ne pas réaliser de contrôles microbiologiques de guérison¹

- Spores détectables chez 7% (2/28) des patients à la fin du traitement²
- Culture positive chez 56% (15/27) des patients 1-4 semaines après l'arrêt du traitement²



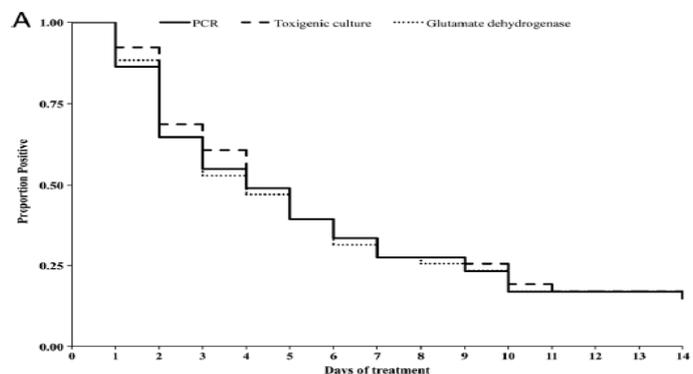
JNI
16th JNI, Nancy, du 10 au 12 juin 2015

1. Crobach et al. *Clin Microbiol Infect* 2009;15:1053-66;
2. Sethi et al. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2010;31:21-7.

Recommandations générales

5- Prélever les selles avant de démarrer le traitement

- 51 patients avec ICD
- Répétition quotidienne du test après début du traitement
- 14%, 35%, et 45% des tests sont devenus négatifs après respectivement 1, 2, et 3 jours de traitement
- L'âge et la souche 027 étaient associés à une persistance de positivité de la PCR.



JNI
16th JNI, Nancy, du 10 au 12 juin 2015

Sunkesula, *CID* 2013, 57, 494-500

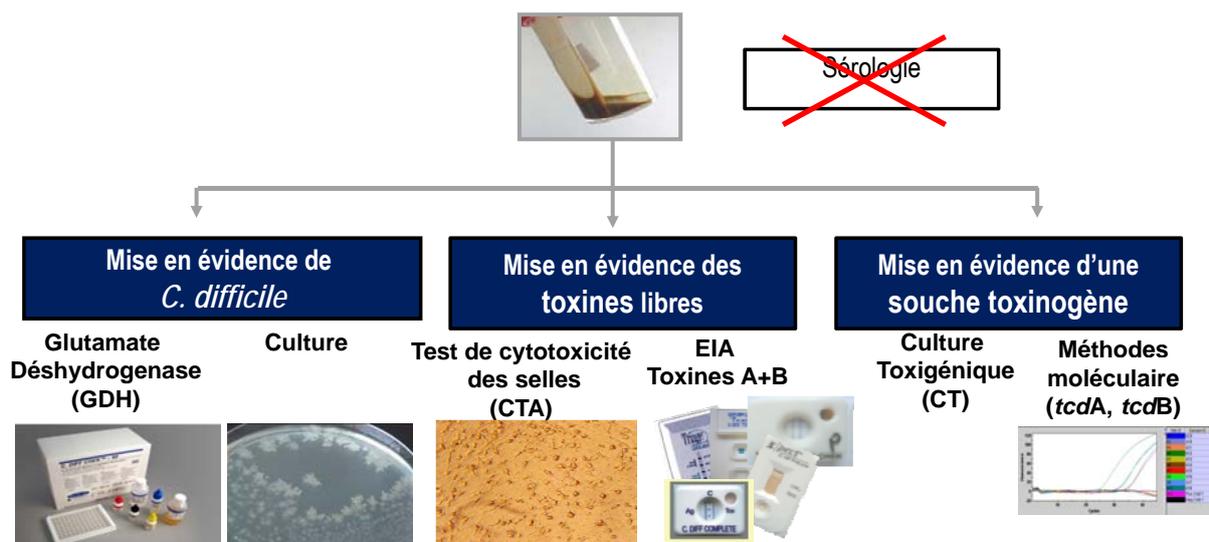
Comment réduire la fréquence de selles inappropriées?

- **Cette fréquence est encore très élevée**
 - 36% des patients testés n'avaient pas les critères de diarrhée (Dubberke *et al.*, 2011)
 - 18% ne présentaient pas de diarrhée ou avaient une autre explication (eg laxatif) (Kundrapu *et al.*, Idweek 2014)
- **Risque de traiter des patients asymptomatiques**
- **Règles de rejet :**
 - Enfant < 3 ans
 - Selles redondantes (< 7 j si 1^{er} résultat négatif ou <10 j si premier résultat +)
 - Selles moulées
 - Formation continue des médecins et IDE²

16th JNl, Nancy, du 10 au 12 juin 2015

Dubberke E, *J Clin Microbiol.* 2011 Aug; 49(8): 2887–2893.
Jury LA, *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2013 Nov;34(11):1222-4

Aspects techniques du diagnostic des ICD



16th JNl, Nancy, du 10 au 12 juin 2015

EIA, enzyme immunoassay;
GDH, glutamate dehydrogenase, NAAT: nucleic acid amplification tests

Diagnostic des ICD

2 méthodes de référence (cibles différentes)



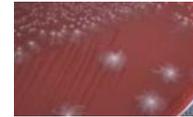
Test de cytotoxicité des selles (CTA)

Toxine libre

Très spécifique, moins sensible

⇒ **signe la maladie**

CTA + chez seulement 48% de
56 patients ayant une CPM¹



Culture toxigénique (CT)

Souche toxigène

Très sensible, moins spécifique

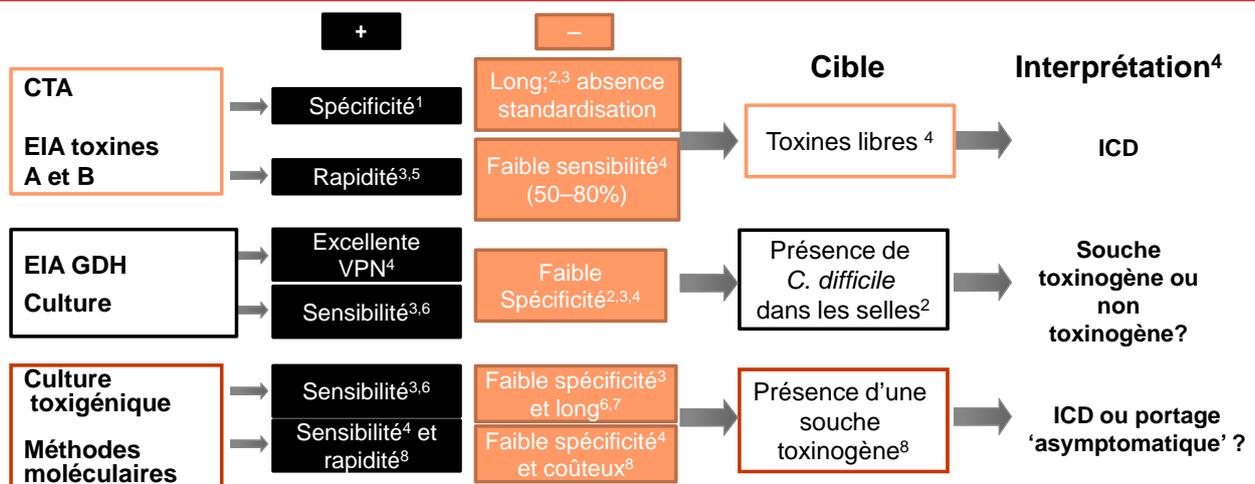
⇒ **Colonisation ou infection?**

Portage asymptomatique fréquent
de *C. difficile* à l'hôpital (7.4%)²

16th JNI, Nancy, du 10 au 12 juin 2015

¹Johal et al. *Gut* 2004;53:673-7;
²Loo V., *NEJM, N Engl J Med* 2011;365:1693-703)

Différentes méthodes, différentes cibles



1. Doern et al. *J Clin Microbiol* 1992;30:2042-6;
2. Shetty et al. *J Hosp Infect* 2011;77:1-6;
3. Barbut et al. *J Clin Microbiol* 1993;31:963-7;
4. Crobach et al. *Clin Microbiol Infect* 2009;15:1053-66;

- EIA, enzyme immunoassay; CTA, cytotoxicity assay;
5. Goldenberg et al. *J Infect* 2011;62:363-70;
 6. Shanholtzer et al. *J Clin Microbiol* 1992;30:1837-40;
 7. De Girolami et al. *J Clin Microbiol* 1992;30:1085-8;
 8. Goldenberg et al. *J Hosp Infect* 2010;74:48-54.

16th JNI, Nancy, du 10 au 12 juin 2015

Performances des tests comparées aux méthodes de référence

Type	Comparé au CTA			Comparé à la CT		
	N études	Sensibilité (95% CI)	Spécificité (95% CI)	N études	Sensibilité (95% CI)	Spécificité (95% CI)
EIA GDH						
total	13	0.94 (0.89-0.97)	0.90 (0.89-0.92)	8	0.96 (0.86-0.99)	0.96 (0.91-0.98)
well-type	6	0.94 (0.91-0.96)	0.91 (0.89-0.92)	1	0.94 (0.93-0.96)	0.94 (0.94-0.95)
membrane-type	7	0.98 (0.78-1.00)	0.90 (0.87-0.93)	7	0.97 (0.84-1.00)	0.96 (0.90-0.99)
EIA Tox A/B						
total	27	0.83 (0.76-0.88)	0.99 (0.98-0.99)	29	0.57 (0.51-0.63)	0.99 (0.98-0.99)
well-type	18	0.85 (0.77-0.91)	0.98 (0.96-0.99)	16	0.60 (0.52-0.68)	0.98 (0.97-0.99)
membrane-type	9	0.79 (0.66-0.88)	0.99 (0.98-0.99)	13	0.53 (0.45-0.61)	0.99 (0.97-1.00)
NAAT	14	0.96 (0.93-0.98)	0.94 (0.93-0.95)	32	0.95 (0.92-0.97)	0.98 (0.97-0.99)

16th JINI, Nancy, du 10 au 12 juin 2015

Crobach M., et al., Manuscript in preparation, ECCMID 2015

Les méthodes moléculaires

Panel GI

FilmArray GI (22)
Luminex xTAG GPP (15)
SeegenDiarrhea ACE (14)

Illumigene® C. difficile*
Meridian Bioscience



Amplification isotherme en boucle LAMP

AmpliVue*
Quidel® Molecular



Amplification isotherme hélicase-dépendante (Biohelix®)

tcdA

Plusieurs cibles

GenoType Cdiff
Hain lifescience



Xpert® C. difficile*
Cepheid



Verigene® CDF*
Nanosphere



RIDA®GENE Clostridium difficile & Toxin A/B



tcdR



tcdB



tcdE



tcdA



tcdC



Simplexa™ C. difficile Universal Direct*
FOCUS Diagnostics



BD GeneOhm™ Cdiff Assay*
BD



tcdB

BD MAX™ Cdiff (BD)



Cobas® Cdiff (Roche)



IMDx C. difficile (Abbott m2000)



Prodesse ProGastro Cd assay*
Gen-Probe



Portrait Toxigenic C. diff Assay*
Portrait, Great Basin



Amplification isotherme hélicase-dépendante

16th JINI, Nancy, du 10 au 12 juin 2015

Les toxines libres sont corrélées à une évolution plus sévère

- Analyse de 12420 selles (10691 patients)
- La présence de toxine libre est associée à une évolution plus sévère
- Les patients PCR+ CTA- ont une évolution clinique équivalente aux patients témoins

	Groupe 1: CTA+ (n=435)	Groupe 2: TC+ CTA- (n=207)	Groupe 3: CTA- TC- (n=5880)
Mortalité	16.6%	9.7% (p=0.022 vs Gp. 1)	8.6% (p<0.001 vs Gp. 1; p=0.53 vs Gp. 2)
Leucocytes (× 10⁹/L)	12.4 ± 8.9	10.1 ± 5.8 (p<0.001 vs Gp. 1)	9.9 ± 10.7 (p<0.01 vs Gp. 1 P=0.69 vs Gr 2)
DMS moyenne après le diagnostic (j)	19.4 ± 25	18.6 ± 27 (p=0.94 vs Gr1)	14.2 ± 22 (p<0.0001 vs Gr 1 P=0.002 vs Gr2)



16th JINI, Nancy, du 10 au 12 juin 2015

CTA, cytotoxicity assay;TC, toxigenic culture;WBC, white blood cell

Planche et al. *Lancet Infect Dis.* 2013 Nov;13(11):936-45.

Les toxines libres ne sont pas associées à une forme plus sévère

- **Etude de 1144 cases d'ICD diagnostiqués par PCR**
 - 37.2% Toxins A/B EIA +
 - 7.9% forme sévère (admission en réanimation, colectomies, décès imputable à CD) (2 médecins)
- **Modèle multivarié prédictif d'une forme sévère et de décès à J+30**

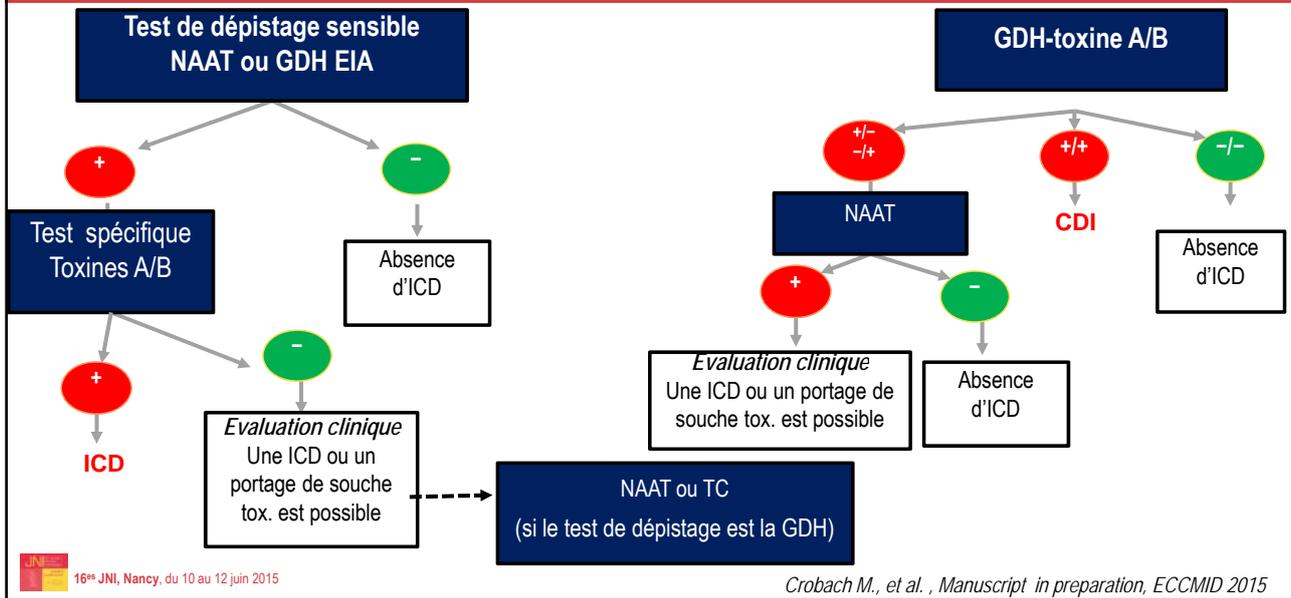
Facteur prédictif	Forme sévère (OR)(95% CI)	Mortalité à J+30 OR (95% CI)
Age	1.03 (1.01-1.05)	1.04 (1.02-1.05)
Cancer métastaté	3.31 (1.41-7.48)	5.28 (2.39-11.63)
Utilisation concomitante d'ATB	4.49 (1.95-10.3)	2.17 (1.07-4.41)
Créatinine >1.5 mg/dl	2.92 (1.77-4.82)	2.41 (1.44-4.02)
Leucocytes (/µl)	1.03 (1.01-1.04)	1.03 (1.01-10.4)
Souche 027	-	1.8 (1.01-3.21)



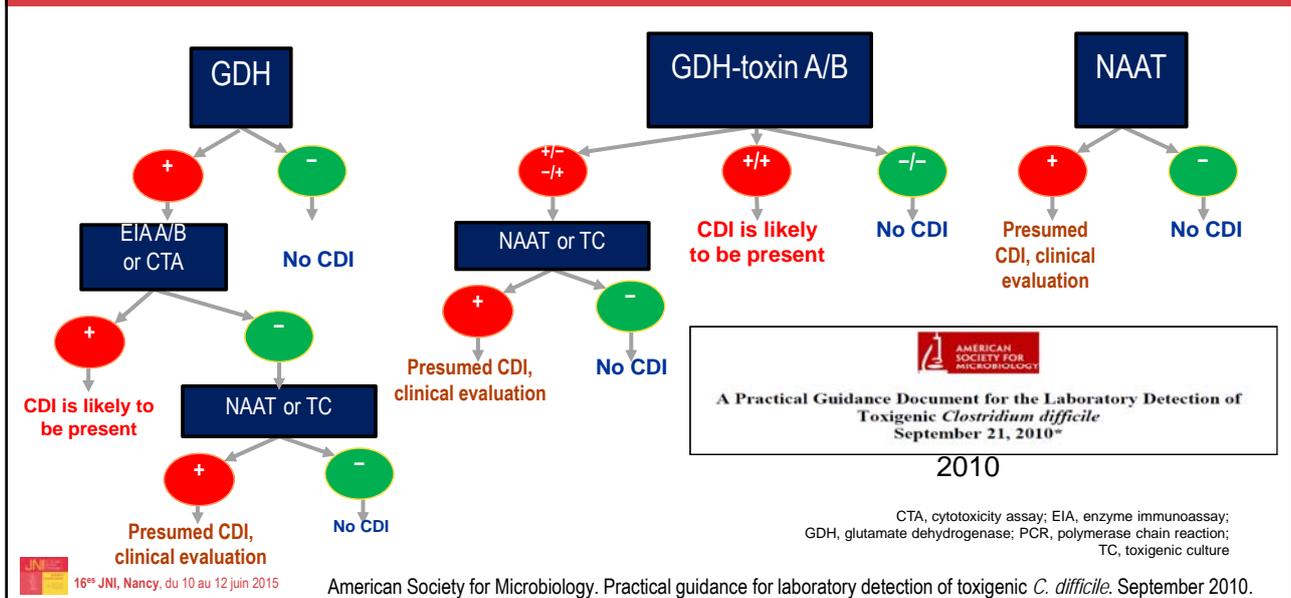
16th JINI, Nancy, du 10 au 12 juin 2015

Rao K., *Clin Infect Dis* 2015, March, ahead of print.

Recommandations de l'ESCMID, 2015



Recommandations de l'ASM, 2010



Catégorisation des algorithmes de diagnostic des ICD

	Test de dépistage	Test de confirmation
Optimale	Méthode moléculaire	Détection des toxines (IEA)
	GDH et détection des toxines (EIA)	Méthode moléculaire ou culture toxigénique
Sub-optimale	GDH	Méthode moléculaire ou culture toxigénique
	Méthode moléculaire	Aucun
Incomplète	Autres algorithmes	

JNI 16th JNI, Nancy, du 10 au 12 juin 2015

Conclusion

- **La sélection des selles est essentielle à une interprétation correcte des résultats**
 - Critères de rejets (selles moulées, enfants, prélèvements redondants...)
- **La recherche de *C. difficile* devrait être systématique**
 - Diarrhée associée aux soins
 - Diarrhée présumée infectieuse avec recherche négative des pathogènes habituels
- **La standardisation des méthodes est indispensable pour une comparaison des résultats entre établissements ¹**
 - Algorithmes en 2 étapes recommandés.
 - Méthode sensible de dépistage (GDH ou PCR) suivie de méthode de confirmation spécifique dépistant les toxines ²
 - Résultat à interpréter en fonction du contexte clinique
 - Résultats dans la journée pour améliorer la prise en charge des patients²

JNI 16th JNI, Nancy, du 10 au 12 juin 2015

¹ Longlin et al. *Clin Infect Dis* 2013;56:67-73;
² Wilcox. *Clin Microbiol Infect* 2012;18(Suppl 6):13-20;
 2- Barbut et al. *CMI* 2014, 20, 136-144.