Nouvelles approches de diagnostic des diarrhées à *Clostridium difficile*.

L. Lemée,

Bactériologie CHU Rouen,

ludovic.lemee@chu-rouen.fr

ACNBH

ODPC N° 1495

42ème Colloque National
des Biologistes des Hôpitaux
Strasbourg, 1-4 octobre 2013

ODPC habilité à dispenser des programmes de DPC jusqu'à évaluation 2013

DECLARATION D'INTERET
DANS LE CADRE DE MISSIONS DE FORMATION
REALISEES POUR L'ACNBH

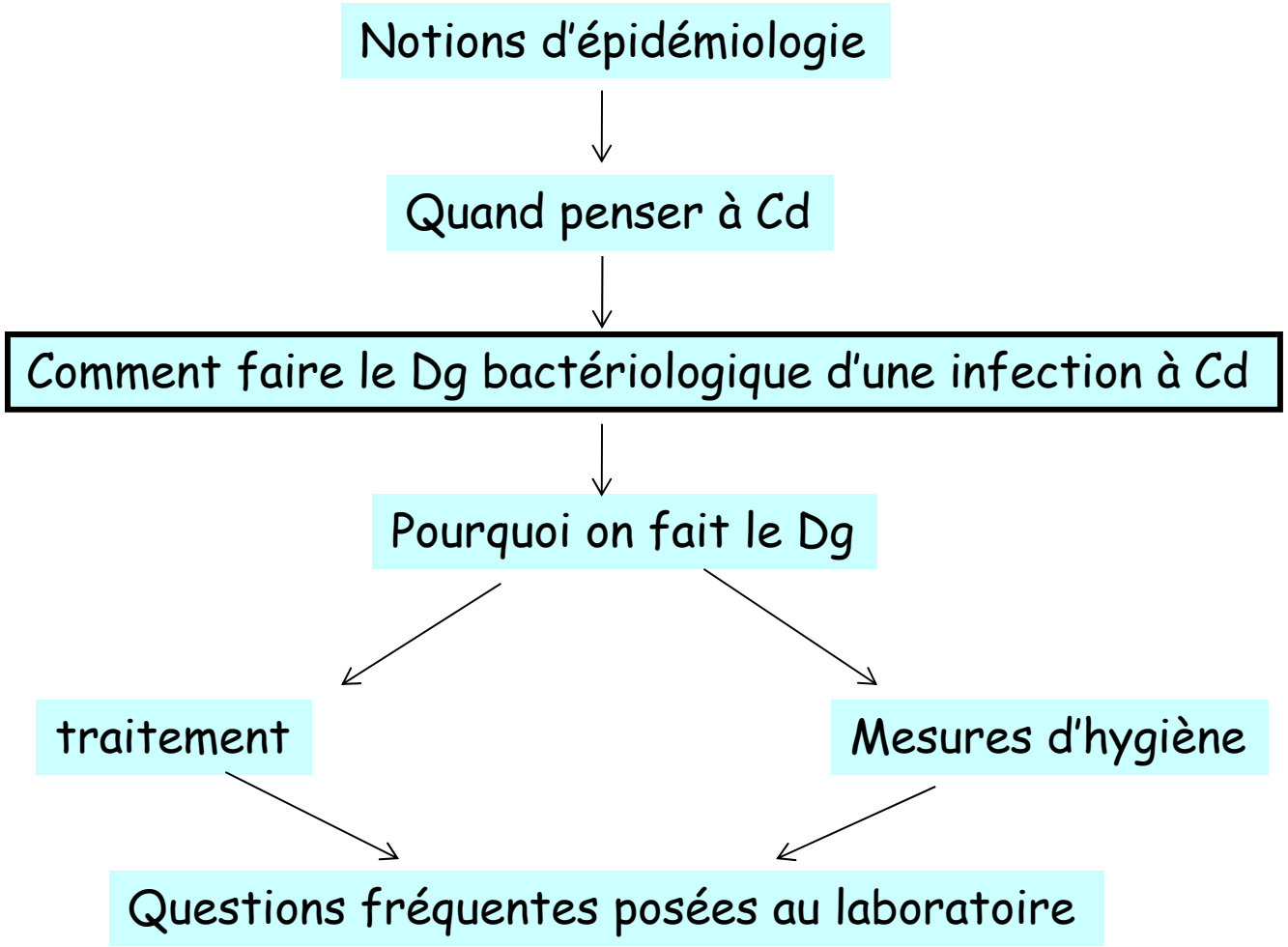
Dr Ludovic Lemée
Exerçant au CHU de Rouen

déclare sur l'honneur

avoir comme seul lien d'intérêt potentiel avec une entreprise pharmaceutique ou du diagnostic concernant **le sujet présenté** :
DiaSorin

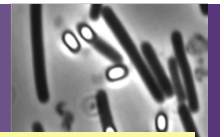
Nouvelles approches de diagnostic des diarrhées à *Clostridium difficile*.

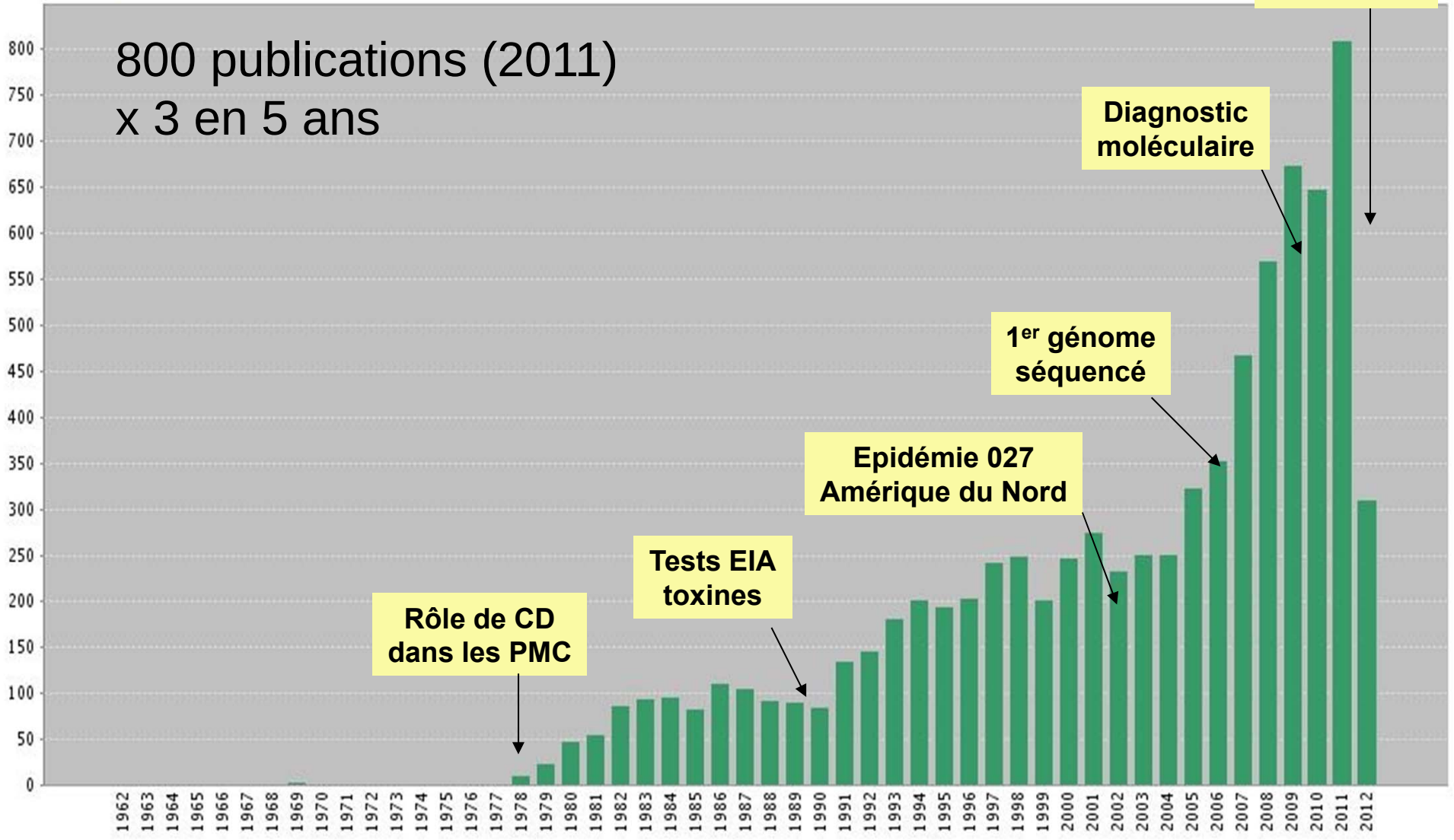
L. Lemée, Bactériologie CHU Rouen,
ludovic.lemee@chu-rouen.fr



Une littérature exponentielle

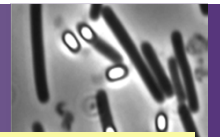
(Web of science, 7 Juin 2012, Mot clé : « *C. difficile* »

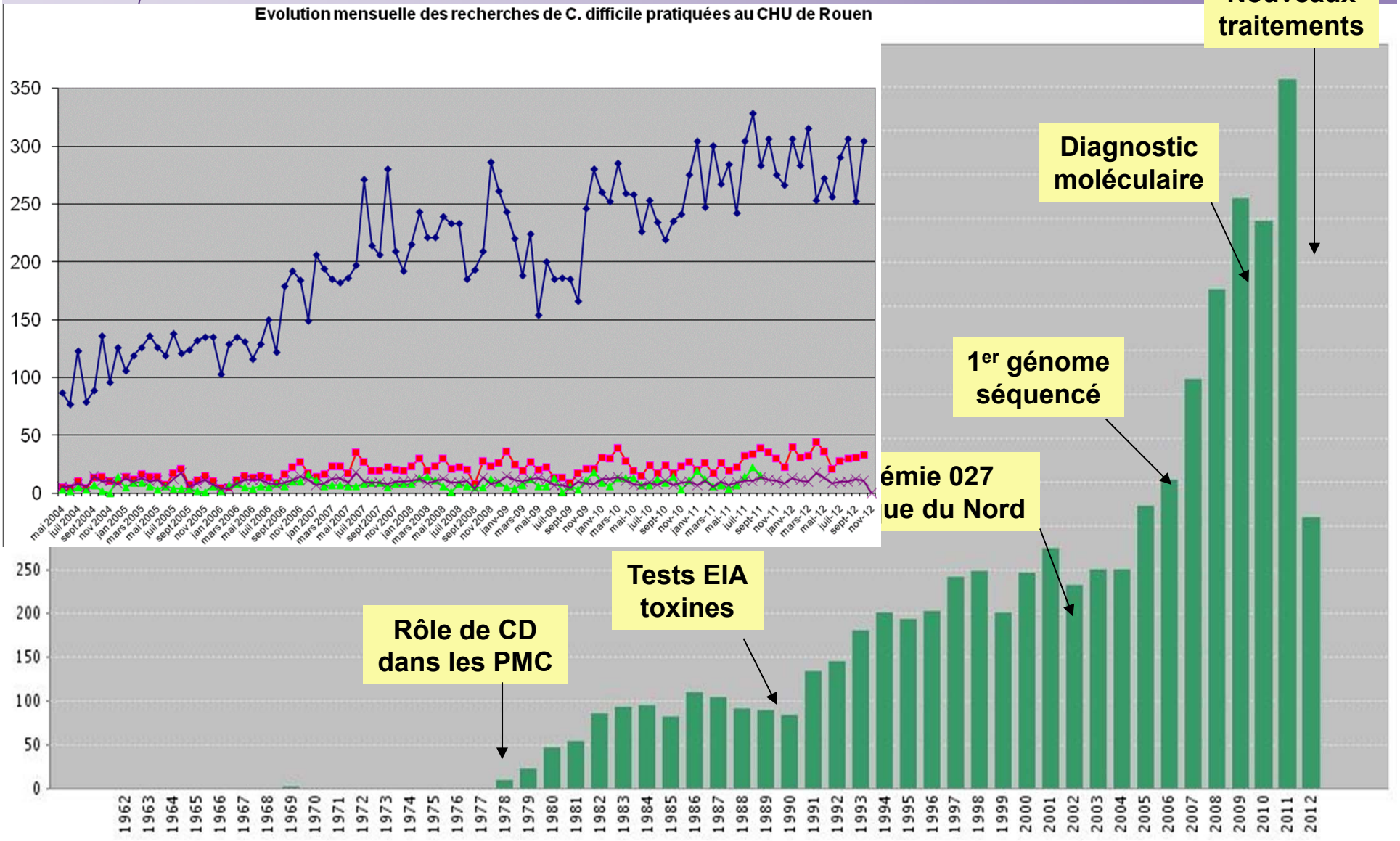




Une littérature exponentielle

(Web of science, 7 Juin 2012, Mot clé : « *C. difficile* »

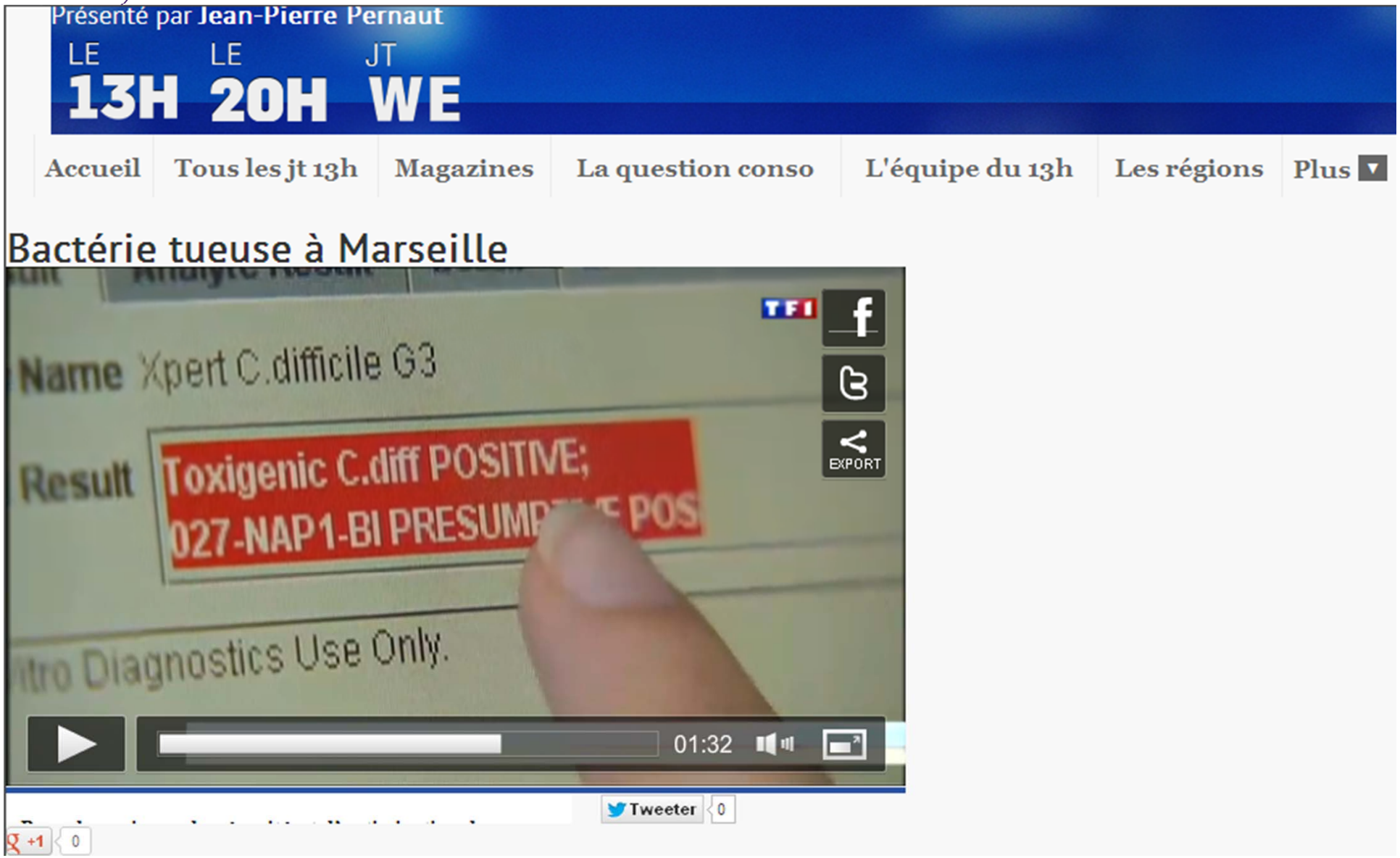




Bactérie tueuse à Marseille - Le journal de 13h - Replay - Windows Internet Explorer
http://videos.tf1.fr/jt-13h/2013/bacterie-tueuse-a-marseille-8281257.html
Live Search
Fichier Edition Affichage Favoris Outils ?
Favoris
Galerie de composants W...
difficile - PubMed - NCBI
Murine models to stud...
Use of Purified Clostri...
Bactérie tueuse à ...
Page Sécurité Outils
Présenté par Jean-Pierre Pernaut
LE 13H LE 20H JT WE
Accueil Tous les jt 13h Magazines La question conso L'équipe du 13h Les régions Plus
Bactérie tueuse à Marseille
TF1
EXPORT
01:02
Tweeter 0
+1 0
Zone inconnue (Mixte)
100%

Comment font-ils à Marseille ??? Indice 1…

Comment font-ils à Marseille ??? Indice 2… et réponse



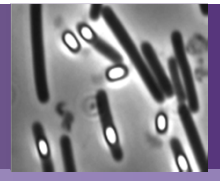
Marseille : les chiffres…

Xpert *C. difficile* bien sûr !

3 décès, 7 personnes hospitalisées actuellement

38 demandes depuis le 23/09, 10 positifs dont 4 à 027 !!

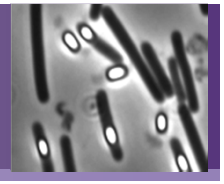
Des progrès indéniables depuis 2003



- **Recherche fondamentale**
  - De nombreux génomes séquencés
  - Possibilité de faire des mutants (Clostron)
  - Meilleure connaissance des facteurs de virulence : toxine, adhésion, sporulation
- **Recherche clinique et épidémiologique**
  - Surveillance des ICD
  - Emergence des formes communautaires
  - Reconnaissance des infections chez l'animal
- **Nouveaux outils pour le diagnostic**
  - Méthodes moléculaires : RT-PCR, Lamp
  - Détection de la Glutamate deshydrogénase
- **Nouvelles perspectives thérapeutiques**
  - > 15 essais cliniques en cours (NIH)
  - Nouveaux ATB : fidaxomicine, rifaximine, nitazoxanide
  - Prévention : mAB, vaccin, transplantation de selles

D'ap. F. Barbut; JNI 2012.

Recommandations



REVIEW 10.1111/j.1469-0691.2009.03098.x

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

M. J. T. Crobach[1], O. M. Dekkers[2], M. H. Wilcox[3] and E. J. Kuijper[1]

1) *Department of Medical Microbiology,* 2) *Department of Clinical Epidemiology, Leiden University Medical Center, Leiden, the Netherlands and* 3) *Department of Microbiology, Old Medical School, Leeds General Infirmary, Leeds, UK*

***CMI* 2009;15:1053**

GUIDELINES 10.1111/j.1469-0691.2009.03099.x

European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): treatment guidance document for *Clostridium difficile* infection (CDI)

M. P. Bauer[1], E. J. Kuijper[2] and J. T. van Dissel[1]

Departments of 1) Infectious Diseases and 2) Medical Microbiology, Centre for Infectious Disease, Leiden University Medical Centre, Leiden, The Netherlands

***CMI* 2009;15:1067**

SHEA-IDSA GUIDELINE

ICHE 2010; 31 :

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)

D'ap. F. Barbut; JNI 2012.

Clostridium difficile : qu'est-ce que c'est ?

Bacille Gram+ anaérobie stricte

réservoir = flore digestive (H. et animal)
sporulé (R environnement, ATB, ATS)

Bactérie entéropathogène (ATB)

10-25 % diarrhée associée à ATB (DAA)
95-100 % colite pseudomembraneuse (CPM)

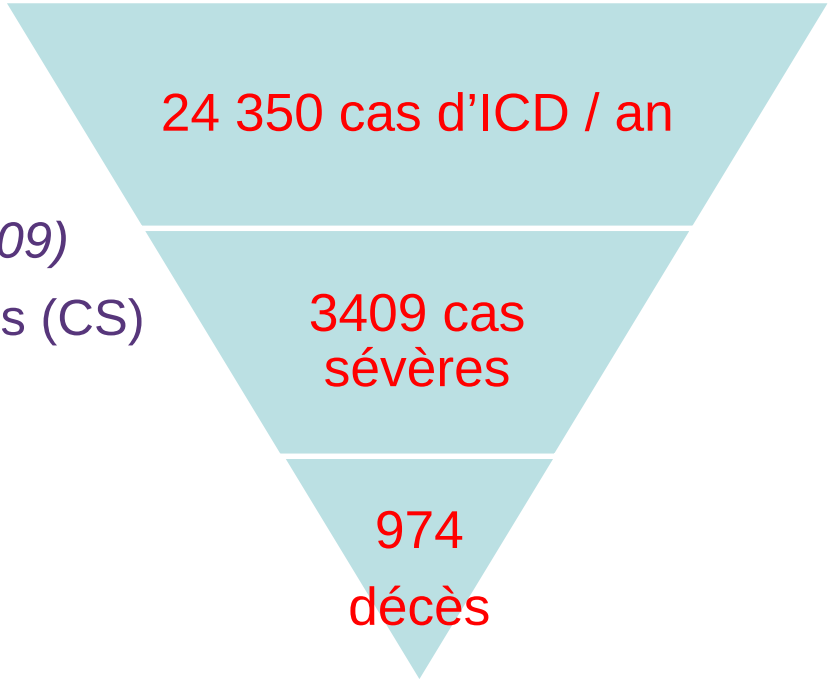
un portage sain parfois plus fréquent que l'infection !

1ère cause de diarrhée infectieuse nosocomiale
agent communautaire émergent ?

Une infection fréquente ?

C. difficile en France…

- **Milieu hospitalier** *(ICD RAISIN 2009)*
  - Incidence 2.2 ICD / 10 000 patient-jours (CS)

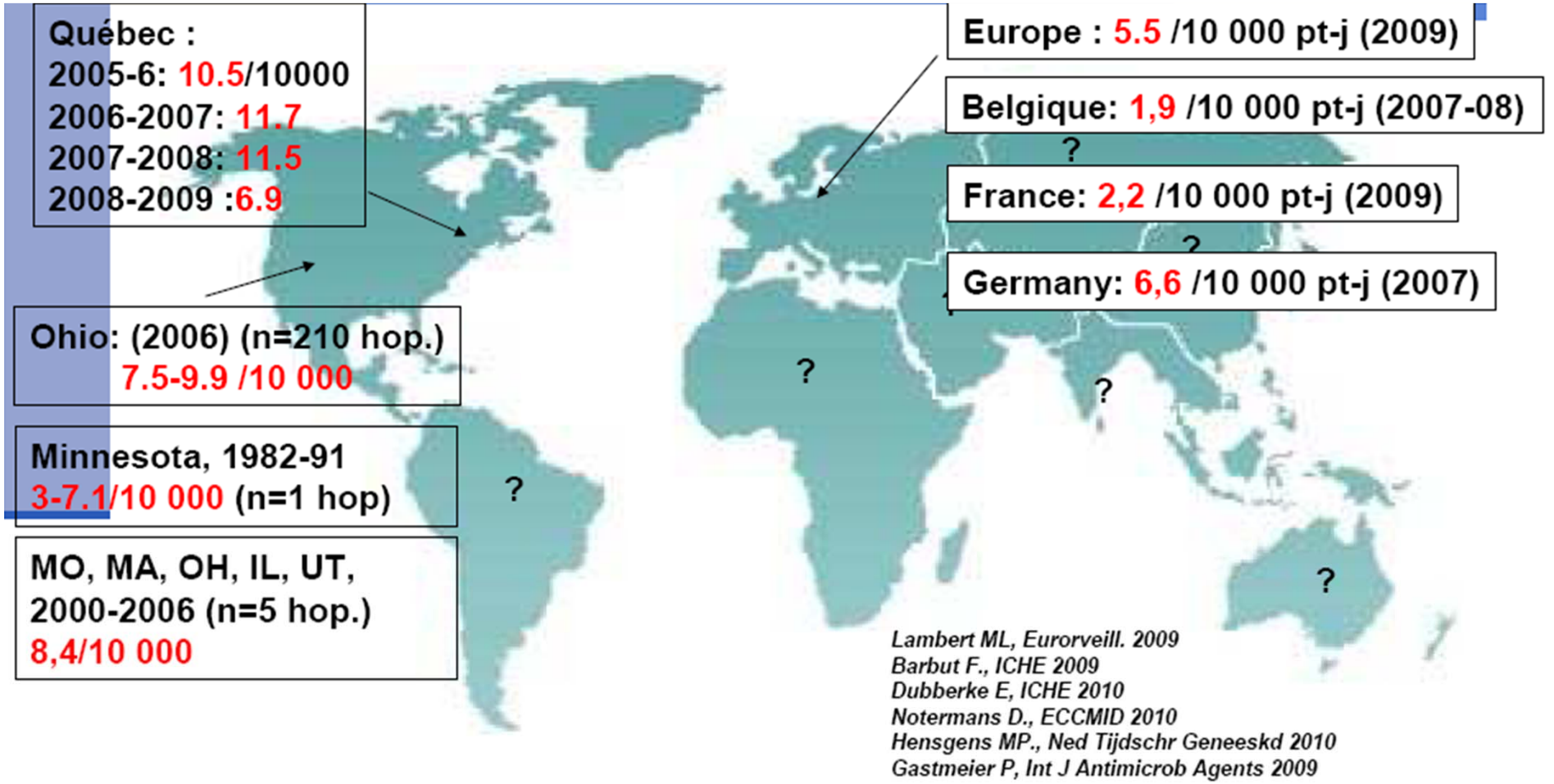


- **Milieu communautaire** ***(Beaugerie,*** *Aliment Pharmacol Ther 2003****)***
  - Taux d'ICD communautaire post-ATB : env. 1.5%
  - **Estimation de 1 620 000 cas d'ICD / an**
  - Bénignes, spontanément résolutives

F. Barbut et C. eckert, Symposium C. difficile, CIS, Institut Pasteur, 14 Mars 2011

Une infection fréquente ? Oui, mais…

C. difficile dans le monde…



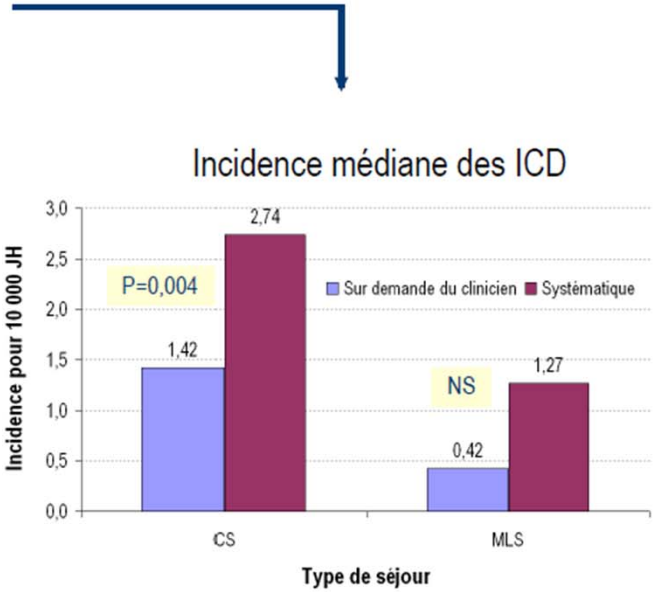
F. Barbut et C. eckert, Symposium C. difficile, CIS, Institut Pasteur, 14 Mars 2011

Une infection fréquente ? Oui, mais…

Résultats : impact des stratégies diagnostiques sur l'incidence des ICD

Stratégie diagnostique	CS (N=105)	MLS (N=95)
Sur demande du clinicien seulement	69%	67%
Systématique*	30%	29%
- sur toutes les selles	9%	7%
- pour certains services	1%	2%
- sur les selles diarrhéiques	19%	18%
- si traitement antibiotique	8%	8%
- si diarrhée nosocomiale	9%	9%
- pour certaines classes d'âge	2%	0%
- autre critères	4%	7%

** réponses multiples possibles*

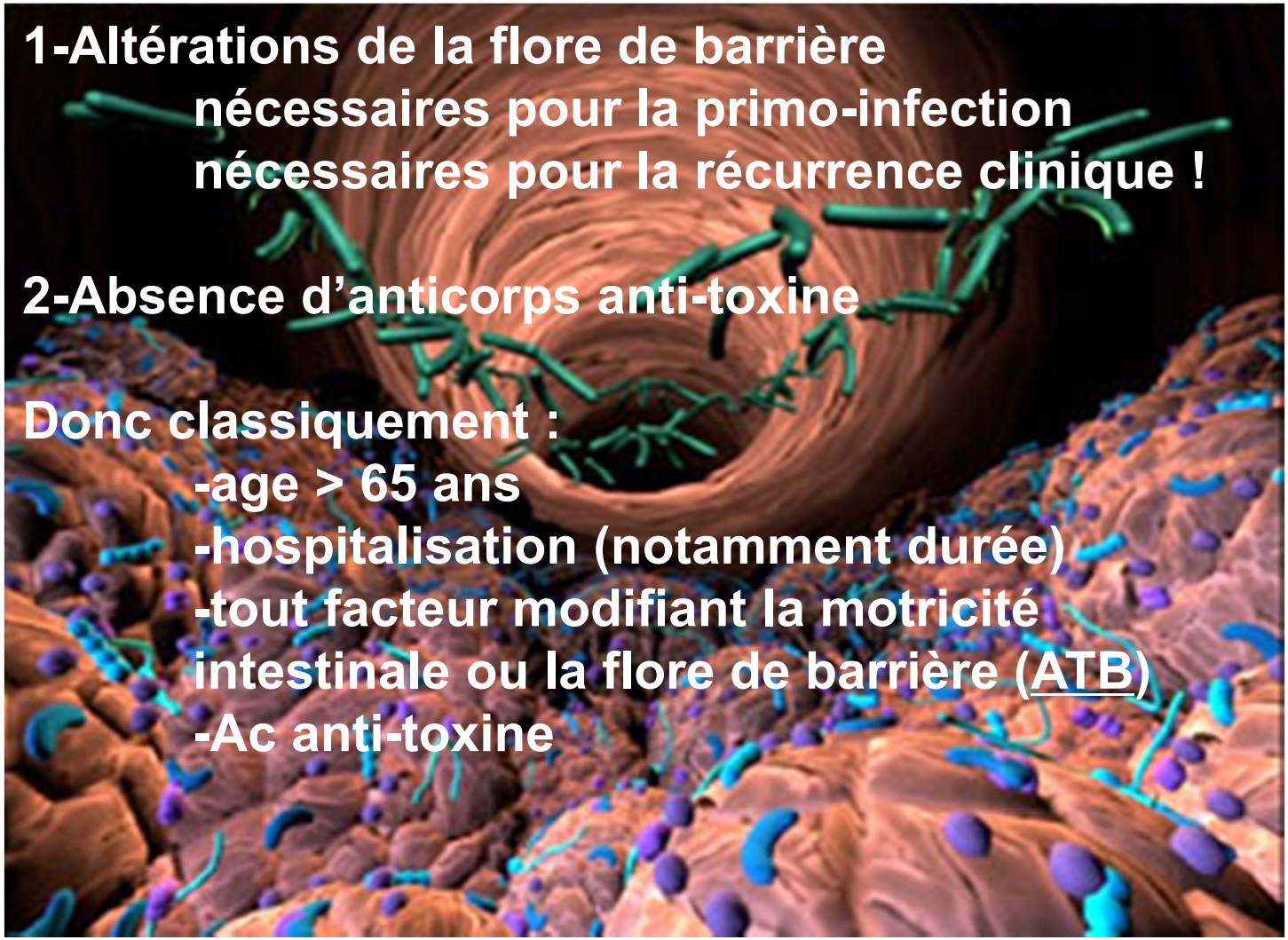


InVS INSTITUT DE VEILLE SANITAIRE

F. Barbut et C. eckert, Symposium C. difficile, CIS, Institut Pasteur, 14 Mars 2011

Les facteurs de risques (existent-ils encore ?)

- **Risque de primo-infection**



(Johnson, CID 1998 ; Kyne, NEJM 2000 ; Kyne, Lancet 2001 ; Pépin, CAMJ 2004)

Les facteurs de risques (existent-ils encore ?)

Les antibiotiques

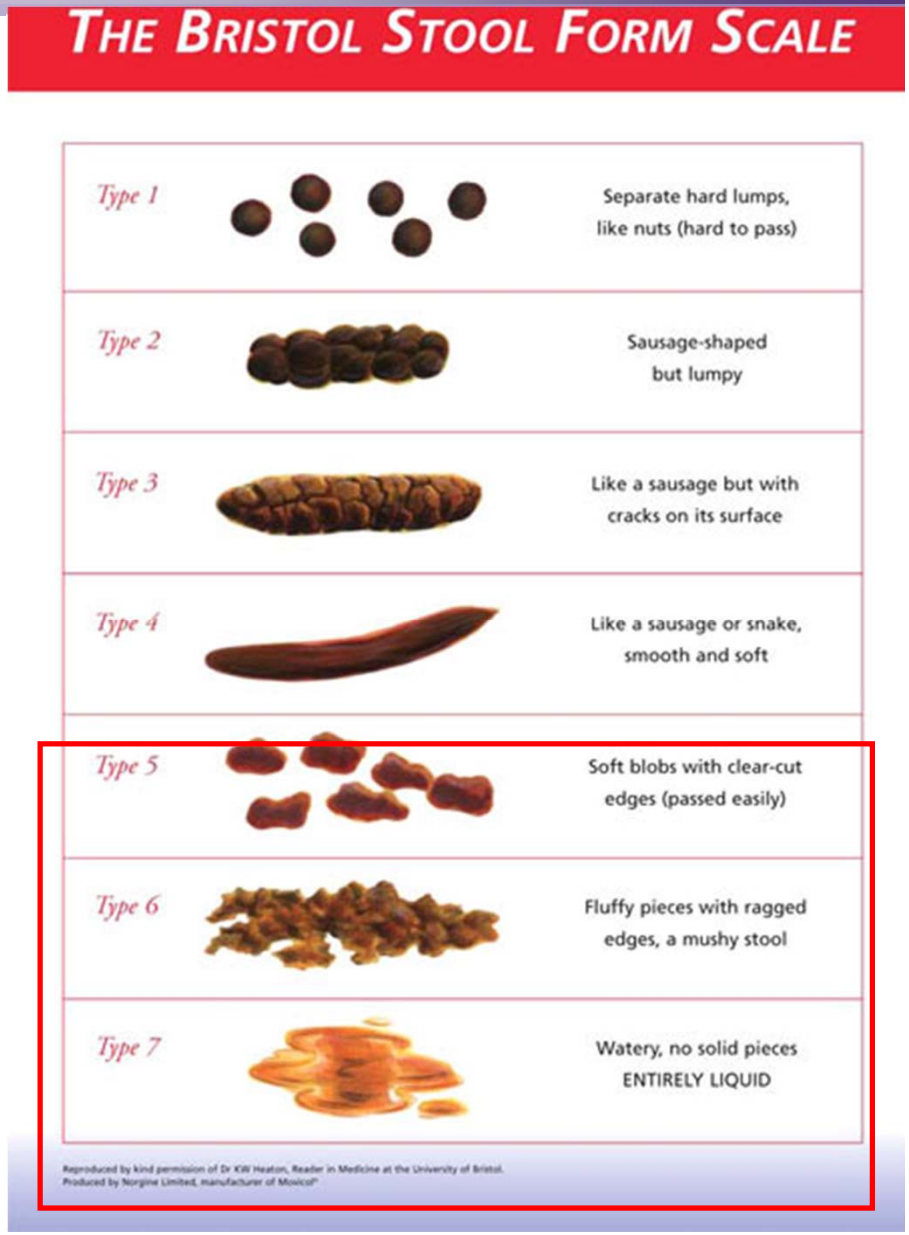
Frequent associated	Occasionally associated	Rarely or No Induction
Ampicillin or	Tetracyclines	Aminoglycosides
Amoxycillin	Sulphonamides	Metronidazole
Cephalosporins	Macrolides	Vancomycin
Clindamycin	Trimethoprim	Tetracyclin
←	Fluoroquinolones	Chloramphenical

- **Risques de récurrences cliniques**
  - Les 2 mêmes facteurs nécessaires (flore et réponse Ac perturbées)!
  - Age, continuation ATB, hospitalisation prolongée
  - Récurrence (= rechute ou ré-infection)
- **Mais émergence d'ICD dans des populations à faible risque**
  - Cas communautaires sévères
  - Patients jeunes
  - Pas d'ATB préalables dans 24% des cas

CDC
MMWR
Weekly
December 2, 2005 / 54(47);1201-1205
Severe *Clostridium difficile*--Associated Disease in Populations Previously at Low Risk --- Four States, 2005

Donc, quand penser à rechercher *C. difficile* ?

- **Toute diarrhée chez un <u>patient de plus de 2 ans</u> non expliquée par une autre cause !**



Les problèmes du diagnostic des ICD…

- **Définition :** tableau clinique compatible avec une ICD et la preuve microbiologique de la présence d'une souche de *C. difficile* productrice de toxines dans les selles sans autre cause évidente de diarrhée ou présence d'une CPM (Bauer, *CMI* 2009)

- **Le diagnostic doit être rapide et fiable**
  - Prise en charge du patient
  - Prévention de la transmission nosocomiale

- **Critères de choix pour une méthode diagnostique**
  - Spécificité
  - Sensibilité
  - Rapide
  - Peu coûteux
  - Simple

→ **Aucune des méthodes actuelles ne satisfait tous ces critères**

D'ap. C. Eckert; JNI 2012.

Diagnostic des ICD

2 méthodes de référence

Test de cytotoxicité des selles (CTA)

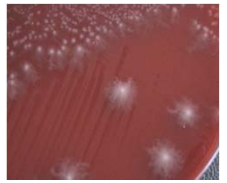
Toxine libre (toxines B et A)

Très spécifique, moins sensible

⇨ Signe la maladie

Cible différente

Culture toxigénique (CT)



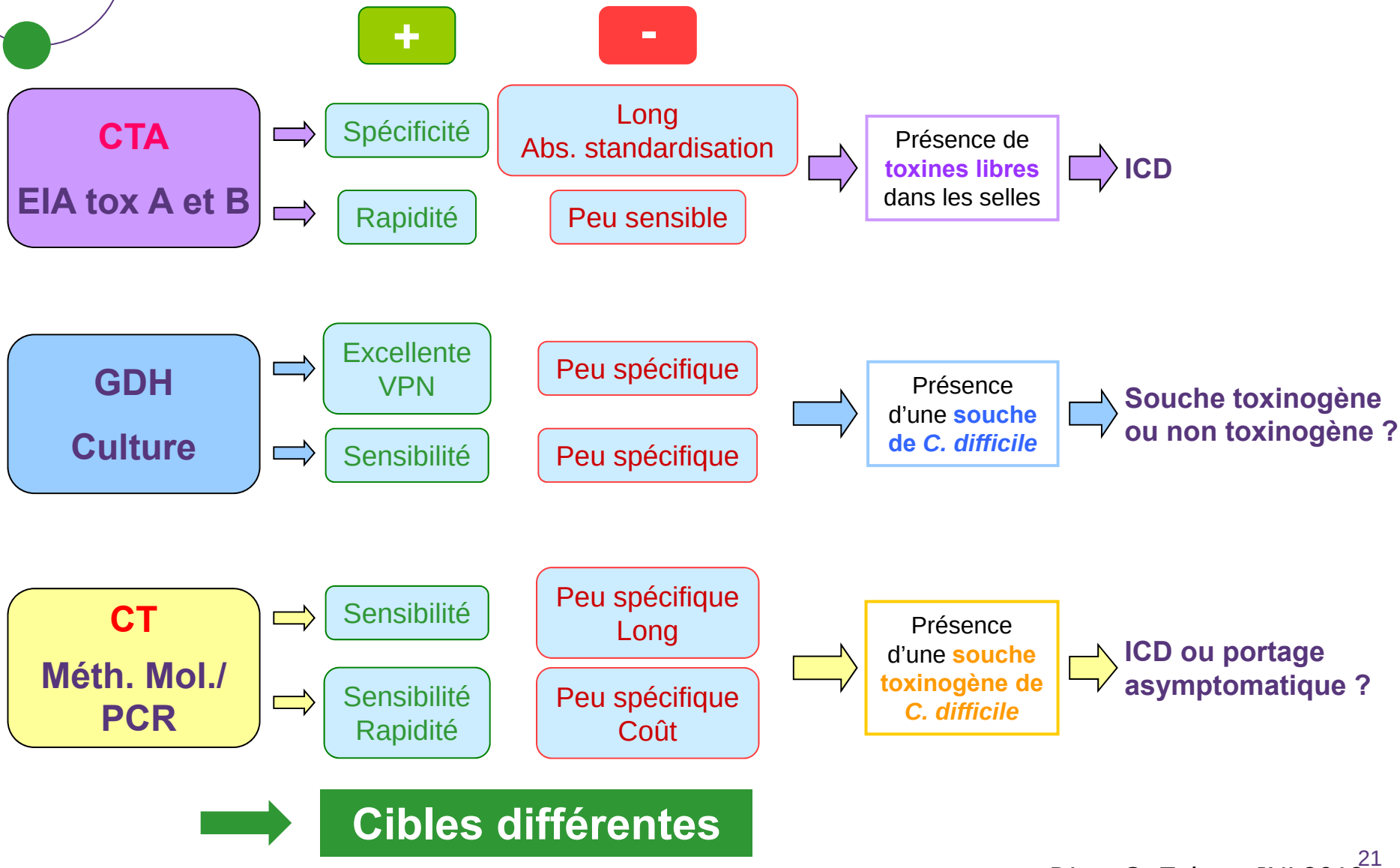
Souche toxinogène

Très sensible, moins spécifique

⇨ Colonisation ou infection ?

D'ap. C. Eckert; JNI 2012.

Différentes méthodes diagnostiques



D'ap. C. Eckert; JNI 2012.

Recommandations

REVIEW 10.1111/j.1469-0691.2009.03098.x

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

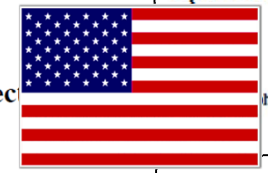
M. J. T. Crobach[1], O. M. Dekkers[2], M. H. Wilcox[3] and E. J. Kuijper[1]

INFECTION CONTROL AND HOSPITAL EPIDEMIOLOGY MAY 2010, VOL. 31, NO. 5

SHEA-IDSA 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)

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



AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY

A Practical Guidance Document for the Laboratory Detec
Toxigenic *Clostridium difficile*
September 21, 2010*

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

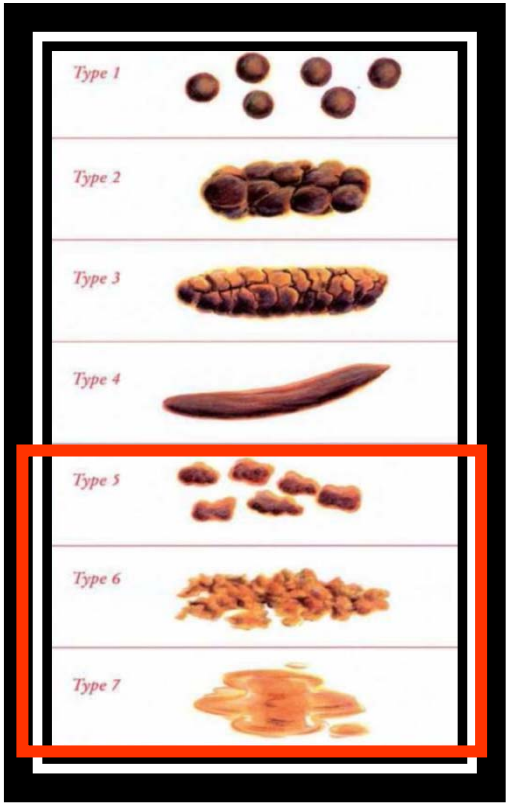
Advisory Committee on Antimicrobial Resistance and Healthcare Associated Infection (ARHAI)
UPDATED GUIDANCE ON THE DIAGNOSIS AND REPORTING OF *CLOSTRIDIUM DIFFICILE*

DH Department of Health

D'ap. C. Eckert, JNI 2012.

Recommandations : ce qu'il faut retenir

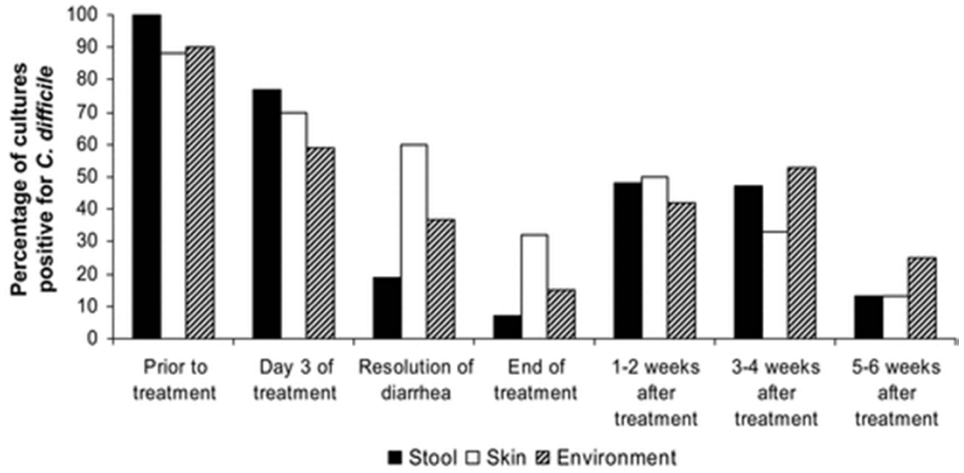
- **Recherche dans toutes les selles diarrhéiques !**



D'ap. C. Eckert; JNI 2012.

Recommandations : ce qu'il faut retenir

- **La répétition des tests diagnostiques n'est pas utile**
  - La répétition des tests est une **pratique courante**
    - 2e test (EIA) réalisé pour 41 % des pts avec un 1er résultat neg (< 7 jours) (Litvin. *ICHE* 2009)
  - **Gain faible** quelle que soit la méthode utilisée (< 2 % en général) (Aichinger. *JCM* 2008)
  - Augmentation du nombre de **faux positifs (diminution de la VPP)** (Litvin. *ICHE* 2009)
  - **Cher**
- **Pas de contrôle après traitement**
  - Spores détectables chez **7 %** (2/28) des pts à la **fin du tt**
  - Cultures positives chez **56 %** (15/27) après **1 à 4 sem après l'arrêt du tt**



Sethi, et al. *ICHE* 2010.

D'ap. C. Eckert; JNI 2012.

Recommandations : ce qu'il faut retenir

- **Tests EIA : sensibilité insuffisante, ne devraient pas être utilisés comme seule méthode diagnostique**

TABLE 4A. Mean sensitivities and specificities for the different types of index tests compared with cytotoxicity assay

Type (no. studies)	Sensitivity (95% CI)	Specificity (95% CI)
Well-type EIA toxin A/B (22)	0.82 (0.79, 0.84)	0.97 (0.97, 0.98)
Membrane-type EIA toxin A/B (24)	0.72 (0.69, 0.74)	0.98 (0.97, 0.98)

TABLE 4B. Mean sensitivities and specificities for the different types of index tests compared with toxigenic culture

Type (no. studies)	Sensitivity (95% CI)	Specificity (95% CI)
Well-type EIA toxin A/B (7)	0.66 (0.61, 0.71)	0.98 (0.97, 0.99)
Membrane-type EIA toxin A/B (7)	0.52 (0.47, 0.57)	0.98 (0.97, 0.99)

Crobach, et al. *CMI* 2009.

Sensitivity and specificity of each test kit with respect to the different reference standards.

Kit (positive/negative)[a]	Reference standard 1 (cell cytotoxicity neutralization assay)		Reference standard 2 (toxigenic culture)	
	Sensitivity	Specificity	Sensitivity	Specificity
Xpect *C. difficile* Toxin (20/474)	45.5 (31.7–59.9)	100.0 (99.2–100.0)	34.5 (23.6–47.3)	100.0 (99.1–100.0)
ImmunoCard Toxins A&B (19/475)	40.9 (27.7–55.6)	99.8 (98.8–100.0)	32.8 (22.1–45.6)	100.0 (99.1–100.0)
Tox A/B Quik Chek (23/471)	43.2 (29.7–57.8)	99.1 (97.7–99.7)	34.5 (23.6–47.3)	99.3 (98.0–99.8)
ProSpecT *C. difficile* A/B microwell assay (32/448)	60.5 (44.7–74.4)	98.0 (96.2–98.9)	47.1 (34.1–60.5)	98.1 (96.4–99.1)
Premier Toxins A&B (36/444)	66.7 (51.6–79.0)	98.2 (96.4–99.1)	57.1 (44.1–69.2)	99.1 (97.6–99.6)
C. difficile Toxin A/B II (27/465)	59.5 (44.5–73.0)	99.6 (98.4–99.9)	48.2 (35.7–61.0)	100.0 (99.1–100.0)

René, et al. *Dg Microbiol and inf. dis.* 2012.

D'ap. C. Eckert; JNI 2012.

Recommandations : ce qu'il faut retenir

- **Méthodes moléculaires ?**
  - Comparés à la culture toxigénique, tous les tests ont une sensibilité trop basse à l'exception des méthodes moléculaires (ESCMID)
  - Possibles comme seule méthode diagnostique (ASM)

D'ap. C. Eckert; JNI 2012.

Méthodes moléculaires : quelques exemples

Auteurs	Test	Nb éch.	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	Test référence	Préval. (%)
Barbut F (2009)	BD geneOhm	300	93,9	97,7	CT	11
Stamper P (2009)		401	83,6	98,2	CT	15,2
Kvach E (2010)		400	91,4	100	CT	26,2
Knetsch CW (2010)		526	88,3	96,9	CT	19,2
Terhes G (2009)		600	96,4	99,1	CTA (CT if disc.)	9,2
Huang H (2009)	Cepheid	220	97,1	93	CTA (CT if disc.)	9,2
Novak Weekley (2010)		432	94,4	96,3	CT	19,6
Stamper P (2009)	Prodesse	285	77,3	99,2	CT	15,7
Lalande V (2011)	*Illumi*gene	472	91,8	99,1	CT	7,2
Noren T (2011)		272	98	98	CTA (CT if disc.)	18,4
Eckert (2011)	Rida®gene toxin A et B	462	81,4	97,6	CT	9,3

Méthodes sensibles, nouveau gold standard ?
Mais : méthodes coûteuses, gène détecté signification ?

D'ap. C. Eckert; JNI 2012.

Recommandations : ce qu'il faut retenir

- **Algorithmes**
  - Plusieurs stratégies possibles
  - GDH en test de screening (bonne corrélation avec la culture, excellente VPN)

Glutamate dehydrogenase (GDH) test characteristics from publications included in the meta-analysis

Study	'Gold standard' test	Prevalence	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV
Eastwood[5]	CTA	15.2 (12.4, 18.3)	90.1 (82.1, 95.4)	92.9 (90.2, 95.1)	71.3 (62.1, 79.4)	98.0 (96.2, 99.1)
	TC	17.5 (14.5, 20.8)	87.6 (79.8, 93.2)	94.3 (91.8, 96.3)	78.0 (69.4, 85.1)	97.1 (98.0, 99.9)
Wren *et al.*[8]	TC	8.6 (7, 10.5)	95.4 (88.6, 98.7)	95.7 (94.1, 96.9)	67.5 (58.4, 75.6)	99.5 (98.8, 99.9)
	C	12.0 (10.1, 14.2)	95.0 (89.5, 98.2)	99.1 (98.2, 99.6)	93.5 (87.6, 97.2)	99.3 (98.5, 99.8)
Vanpoucke *et al.*[13]	CTA	15.3 (11.8, 19.4)	92.9 (82.7, 98.0)	91.9 (88.3, 94.7)	67.5 (55.9, 77.8)	98.6 (96.5, 99.6)
Reyes *et al.*[14]	TC	21.9 (18, 26.3)	79.5 (69.6, 87.4)	100 (98.8, 100)	100 (94.9, 100)	94.6 (91.5, 96.7)
Ticehurst *et al.*[15]	CTA	9.0 (5.9, 13.1)	95.8 (78.9, 99.9)	90.1 (85.6, 93.5)	48.9 (34.1, 63.9)	99.5 (97.5, 100)
Zheng *et al.*[12]	CTA	13.8 (11.7, 16.1)	92.7 (87.0, 96.4)	89.1 (86.8, 91.1)	57.7 (50.9, 64.3)	98.7 (97.6, 99.4)
Fenner *et al.*[11]	C	10.4 (8.8, 12.0)	93.4 (88.2, 96.8)	96.6 (95.5, 97.5)	75.9 (69.2, 81.9)	99.2 (98.6, 99.6)
Snell *et al.*[16]	C	19.1 (15.5, 22.7)	93.5 (86.5, 97.6)	98.0 (96.1, 99.1)	91.6 (84.1, 96.3)	98.5 (96.8, 99.5)
Barbut *et al.*[17]	CTA	33.3 (27.2, 39.9)	90.8 (81.9, 96.2)	98.7 (96.2, 99.7)	95.8 (88.3, 99.1)	97.0 (93.9.98.8)
Massey *et al.*[18]	CTA	25.7 (22.1, 29.5)	97.2 (93.0, 99.2)	87.0 (83.3, 90.0)	72.0 (65.1, 78.2)	98.9 (97.2, 99.7)
Landry *et al.*[19]	CTA	15.0 (8.6, 23.5)	100 (78.2, 100)	82.7 (72.2, 90.4)	53.6 (33.9, 72.5)	100 (94.2, 100)
Turgeon *et al.*[20]	CTA	10.1 (8.3, 12.1)	89.1 (81.1, 94.4)	89.7 (87.5, 91.6)	49.2 (41.7, 56.7)	98.7 (97.6, 99.3)
Alfa *et al.*[21]	CTA	14.5 (11.2, 18.3)	91.4 (83.3, 98.1)	88.9 (85.1, 92.0)	58.2 (47.4, 68.5)	98.4 (96.3, 99.5)

PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value; C, culture only; CTA, cell culture cytotoxin assay; TC, toxigenic culture.
95% confidence intervals are shown in parentheses.

Méta-analyse

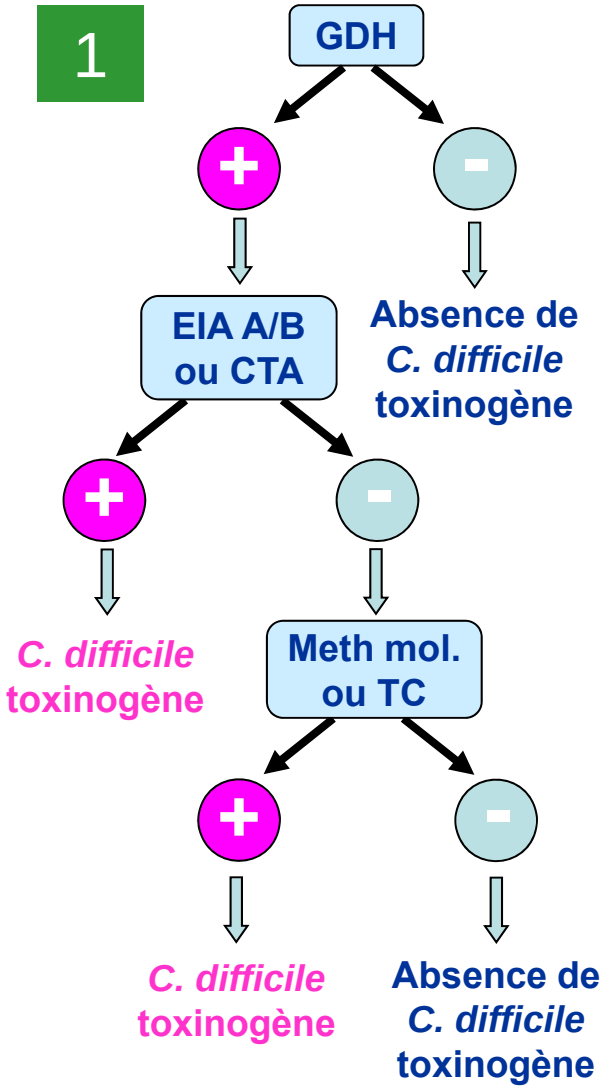
VPN : 94,6-100 %

Shetty, et al. *JHI* 2011.

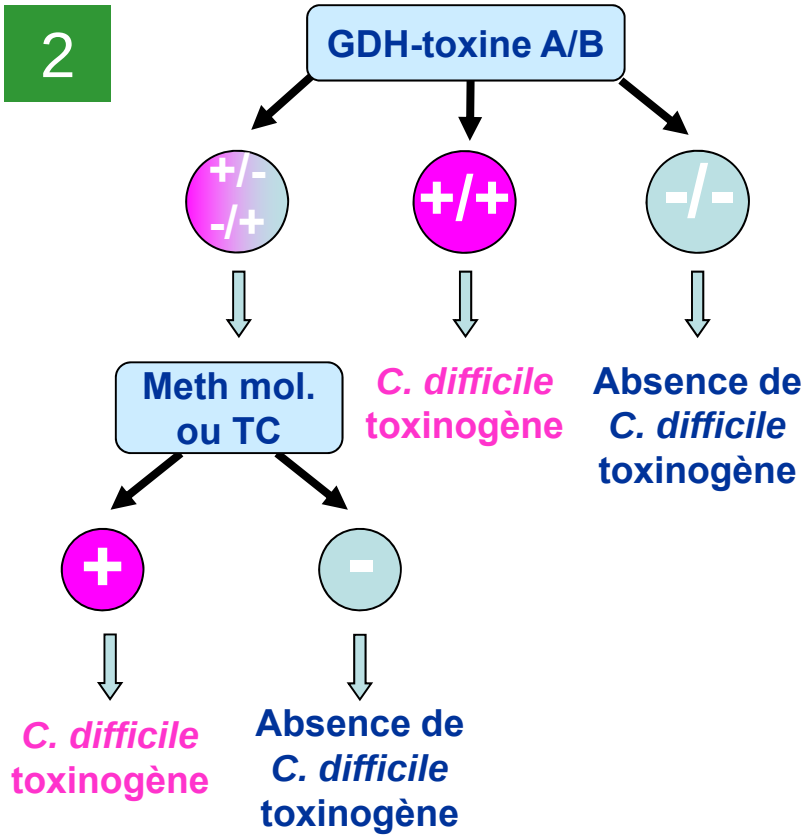
D'ap. C. Eckert; JNI 2012.

Exemples d'algorithmes

1



2



AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY

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

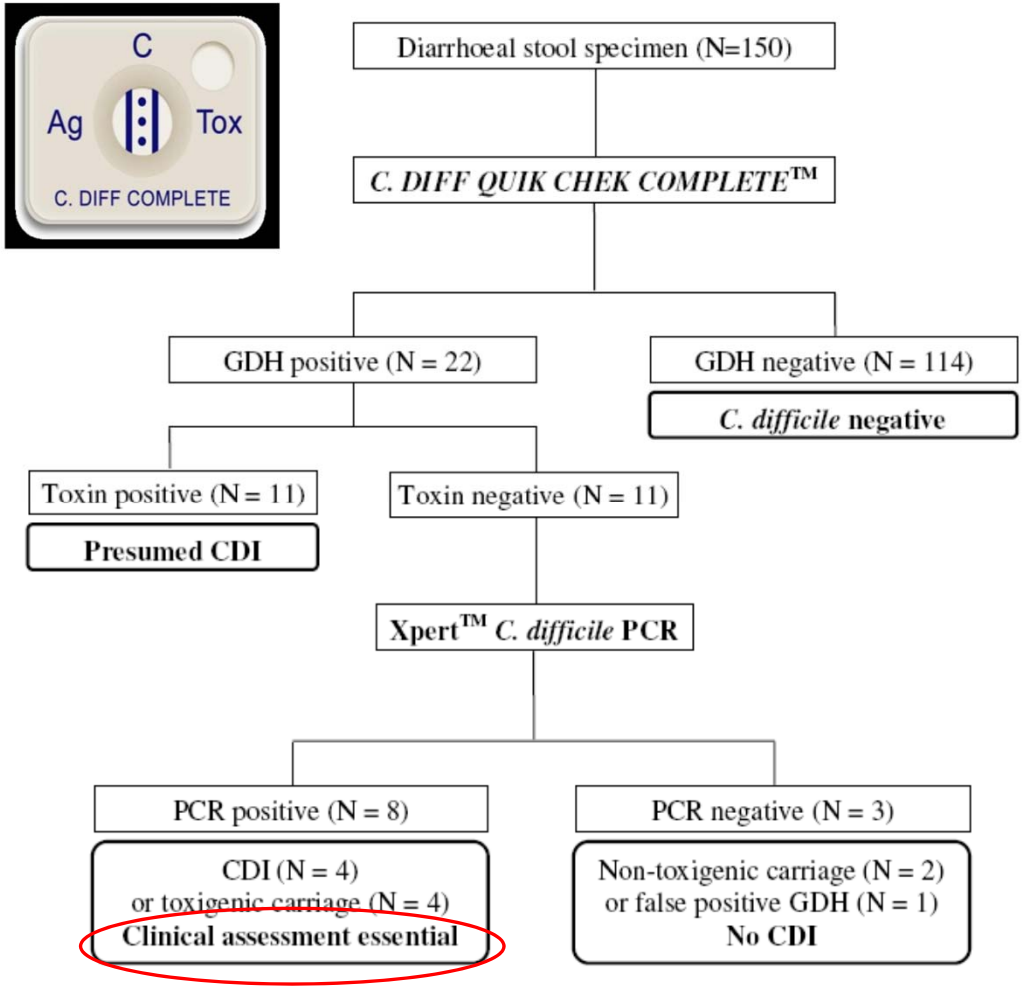
D'ap. C. Eckert; JNI 2012.

Exemples d'algorithmes

Evaluation of Diagnostic Tests for *Clostridium difficile* Infection[▽]

Jonathan Swindells, Nigel Brenwald, Nathan Reading, and Beryl Oppenheim*
Department of Medical Microbiology, City Hospital, Birmingham, United Kingdom

JCM 2010



n = 150 - CTA, culture et CT

⇨ 85,3 % GDH - : exclusion ICD

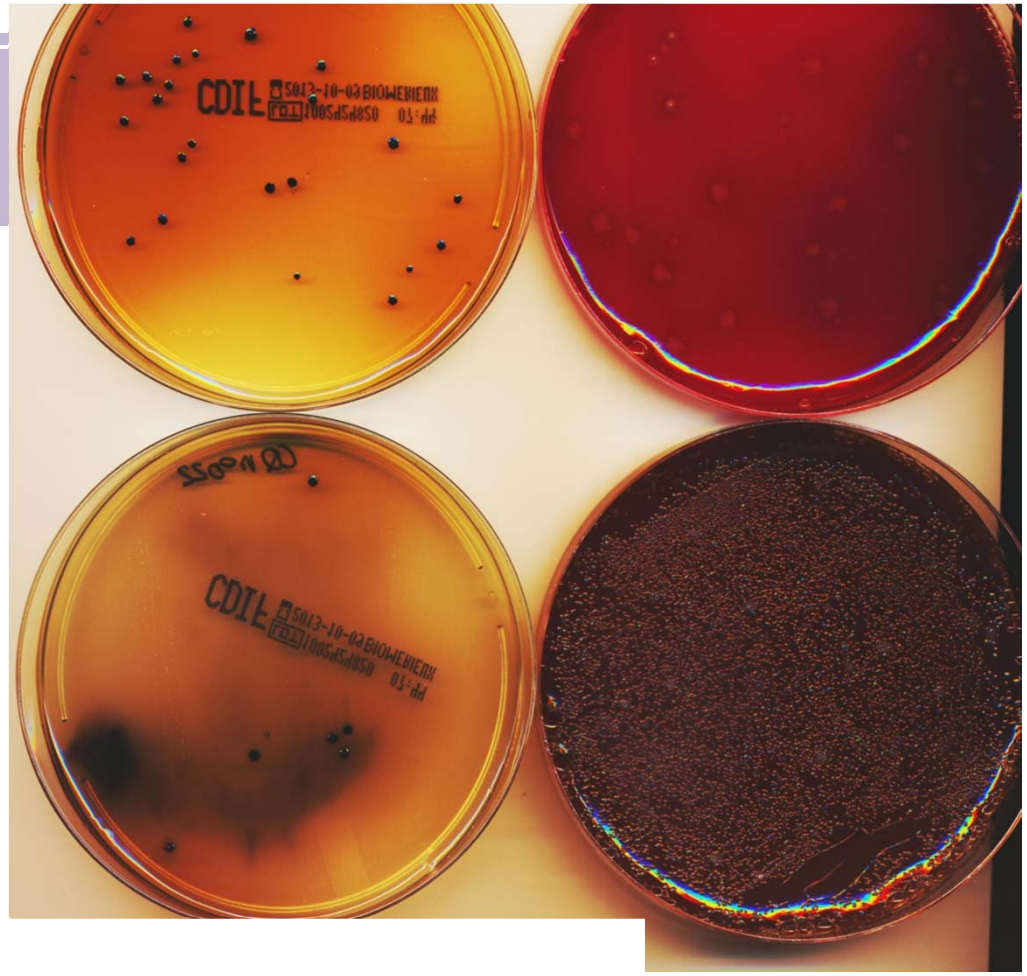
⇨ 7,3 % pos GDH et toxine : ICD

⇨ 7,3 % discordants : PCR

D'ap. C. Eckert; JNI 2012.

la culture en 2013 ?

La sensibilité,
Le faible coût en réactif (?),
« culture toxigenique » nécessaire
Mais délai de réponse long !!!



JCM
Journals.ASM.org

Evaluation of the Chromogenic Agar chromID C. difficile

Catherine Eckert,[a,c] Béatrice Burghoffer,[a,c] Valérie Lalande,[b,c] Frederic Barbut[a,b,c]

National Reference Laboratory for C. difficile, Hôpital Saint-Antoine, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France[a]; Microbiology Unit, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Saint-Antoine, Paris, France[b]; UPMC Univ Paris 06, GRC no. 2, Epidiff, Paris, France[c]

Three selective media (chromID C. difficile agar, taurocholate cycloserine cefoxitin agar [TCCA; homemade], and CLO medium) were compared from 406 stool samples of patients suspected of having *Clostridium difficile* infection. The sensitivities of chromID C. difficile agar at 24 h and 48 h, CLO medium, and TCCA were 74.1%, 87%, 85.2%, and 70.4%, respectively.

« Culture toxigénique » en une étape ?

J Clin Microbiol. 2011 Dec;49(12):4219-24. doi: 10.1128/JCM.01033-11. Epub 2011 Oct 5.

Novel one-step method for detection and isolation of active-toxin-producing Clostridium difficile strains directly from stool samples.

Darkoh C, Dupont HL, Kaplan HB.

The University of Texas Graduate School of Biomedical Sciences, Houston, TX, USA.

Differentiation of active toxin-producing and non-toxin producing strains of *C. difficile* by the CDPA. Two stool samples were spread directly onto different parts of the plate, incubated anaerobically at 37°C for 48 h, and exposed to air at room temperature for more than 30 min. Blue colonies on the left are toxin-producing *C. difficile* (Tox^+); pale white colonies on the right are non-toxin-producing *C. difficile* (Tox^-).

Alors, pensez-vous bien faire ???
(d'après des résultats préliminaires de l'étude EUCLID…..)

- **Etude européenne 2013**
- **70 établissements français**
- **664 selles recueillies**
- **Référence = diarrhée et culture + à souche toxinogène**
- **Efficacité diagnostic des labos qui ont envoyé des selles :**

44.4% !!!

Donc 55% d'ICD (potentielles) non diagnostiquées !

25% faux négatifs

30% recherches non faites (pas dans critères locaux)

Bien faire le Dg. Mais pourquoi le faire vite ?

- **Pour la prise en charge thérapeutique spécifique**

- **Pour les mesures d'hygiène**

Traitement des diarrhées à *Clostridium difficile*
Anciennes et nouvelles approches

Bien faire le Dg. Mais pourquoi le faire vite ?

Does a rapid diagnosis of *Clostridium difficile* infection impact on quality of patient management?

F. Barbut[1,2,3], L. Surgers[2], C. Eckert[1,3], B. Visseaux[2], M. Cuingnet[2], C. Mesquita[2], N. Pradier[2], A. Thiriez[2], N. Ait-Ammar[2], A. Aifaoui[2], E. Grandsire[2] and V. Lalande[1,2,3]

1) *UPMC Université Paris 06*, 2) *Department of Microbiology, AP-HPHôpital Saint-Antoine and* 3) *National Reference Laboratory for Clostridium difficile* Paris France

Recommandations françaises HCSP 2008

- **Le retrait de l'antibiotique responsable conduit dans 25 % des cas à une guérison en 2 à 3 jours et doit donc être effectué chaque fois que possible**
- **Si arrêt des antibiotiques responsables non envisageable, substituer si possible par un autre antibiotique plus rarement impliqué dans la survenue d'une diarrhée post-antibiotique (aminosides, sulfamides, macrolides, vancomycine, tétracycline)**
- **En établissement de santé, traiter tous les cas symptomatiques par antibiotiques**
  - 1re intention : métronidazole *per os* 500 mg x 3/j pendant 7-14 jours
  - Formes sévères, contre-indication ou non-réponse au métronidazole en 3 à 5 jours : vancomycine *per os* 125 à 500 mg x 4/j pendant 14 jours
- **1re récurrence : reprendre le traitement efficace en 1re ligne**
- **Echec 1re ligne, > 1 récurrence : avis complémentaire requis**

D'ap. V. Le Moing; JNI 2012.

Vancomycine *vs* métronidazole

Critère	Vancomycine	Métronidazole
Résistance	Exceptionnelle	Très rare ; à surveiller
Concentration dans les selles	125 x 4 : CMI x 100	CMI x 10 si diarrhée CMI x 1 si selle moulée
Sélection d'ERG	+	+
Guérison clinique*	78 %	71 %
Récurrences	15-25 %	15-25 %
Coût	1,05 €/j	1,30 €/j

* Méta-analyse Cochrane ; OR = 0,91 (0,81-1,03) ; niveau de preuve très faible

Kelsey. *The Cochrane Library* 2011.

D'ap. V. Le Moing; JNI 2012.

Limites des stratégies actuelles

- **Les taux de récurrences sont élevés et concernent surtout un sous-groupe de sujets souffrant de récurrences multiples (35-65 % des sujets ayant fait une 1re récurrence en feront une 2e)**
- **Pourquoi ?**
  - inefficacité des antibiotiques sur spores de *C. difficile*
  - réponse immune muqueuse insuffisante
  - effet des antibiotiques, dont le traitement anti-*Clostridium* dans ses formes actuelles, sur la flore intestinale

D'ap. V. Le Moing; JNI 2012.

Prévention des récurrences

- **Arrêt des antibiotiques (OR de récurrence ≈ 4) et des inhibiteurs de la pompe à proton (OR ≈ 2)**
- **Rapport bénéfice-risque des probiotiques (*Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus* spp.) non établi**
- **En cas de récurrences multiples, trois stratégies ont montré quelque intérêt dans des études d'observation (faible niveau de preuve) :**
  - la vancomycine à hautes doses puis progressivement décroissantes (efficacité : 30-40 %)
  - l'immunisation passive par Ig IV (300-500 mg/kg)
  - la transplantation fécale (efficacité 90 % dans petites séries)

Garey. *J Hosp Infect* 2008;70:298. Tedesco. *Am J Gastroenterol* 1985;80:867. McFarland. *Am J Gastroenterol* 2002;97:1769.

D'ap. V. Le Moing; JNI 2012.

Fidaxomicine (Dificlir®)

- **Antibiotique macrocyclique**
- **Spectre étroit : activité intrinsèque supérieure à celle de la vancomycine sur *Clostridia* spp. mais activité faible sur les autres bactéries de la flore fécale (exclusivement sur les Gram positif)**
  - **effet moindre sur la flore fécale que la vancomycine dans plusieurs études chez sujets atteints de diarrhée à *C. difficile***
- **Sélection de résistance possible *in vitro*, décrite *in vivo***
- **Activité antitoxinique**
- **Effet post-antibiotique**
- **Diffusion systémique minime**

Duggan. Drugs 2011;71:2445.

D'ap. V. Le Moing; JNI 2012.

Fidaxomicine : efficacité clinique

- 2 études pivots de phase III : 1 164 patients atteints d'une diarrhée à *C. difficile* (n = 1 105 ITTm)
- Population : patients atteints d'une diarrhée à *C. difficile* non compliquée (17 % 1re récurrence ; 38 % souche hypervirulente, 40 % formes sévères)
- Critère de jugement principal (non-infériorité) : guérison clinique en fin de traitement
- Critères secondaires (supériorité) : survenue de récidives et guérison persistante

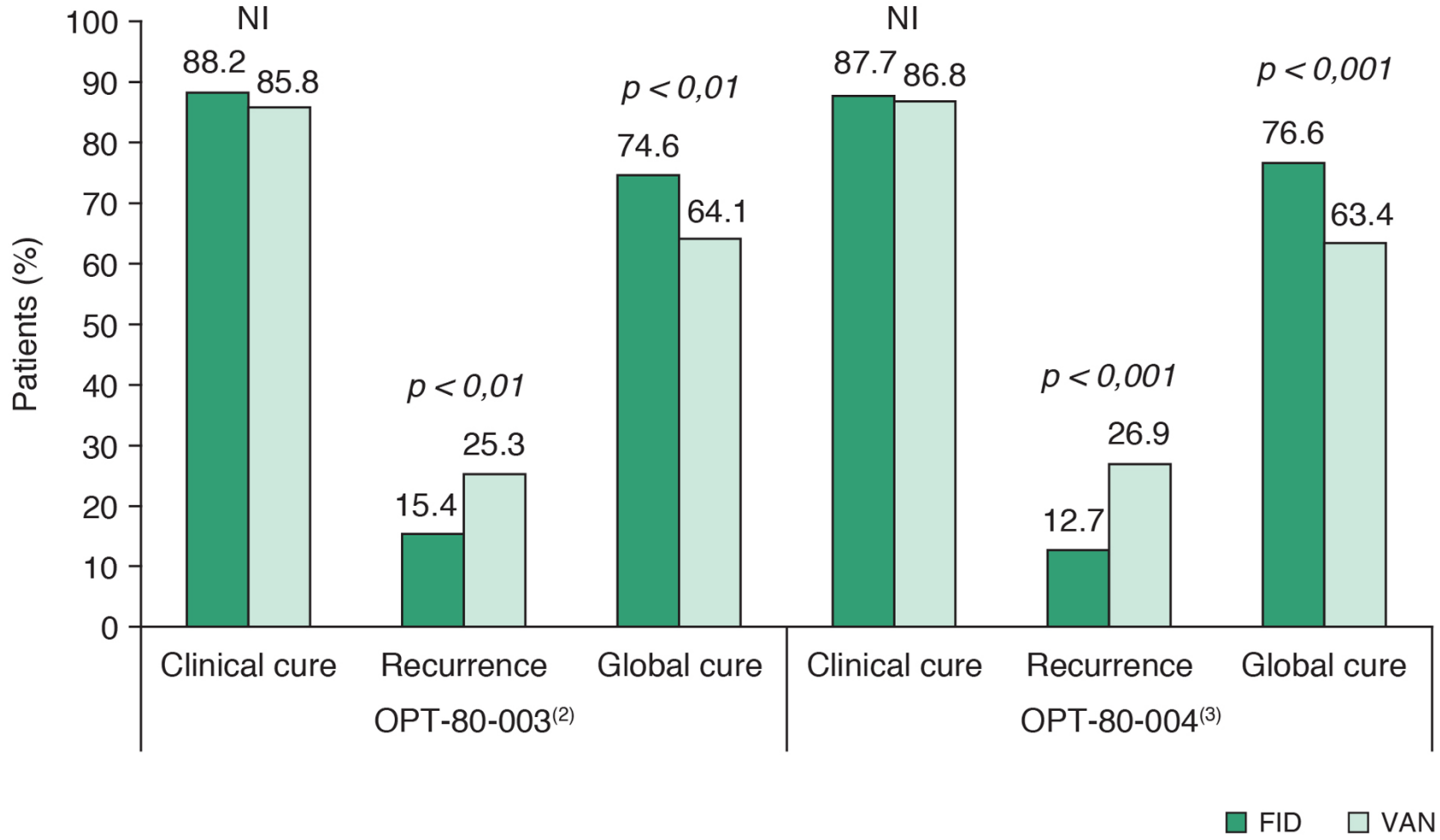
Essai	Description	Fidaxomicine	Vancomycine
Phase III (003)(1)	Etude multicentrique nord-américaine de 10 jours, randomisée, en double aveugle, en groupes parallèles	200 mg x 2/jour (n = 302)	125 mg x 4/jour (n = 327)
Phase III (004)(2)	Etude multicentrique internationale de 10 jours, randomisée, en double aveugle, en groupes parallèles	200 mg x 2/jour (n = 270)	125 mg x 4/jour (n = 265)

- Effets indésirables comparables dans les 2 groupes
- Concentrations fécales : 5 000 x CMI_{90} de fidaxomicine pour *C. difficile*

1) Louie, et al. *N Engl J Med* 2011;364:422-31.
2) Cornely, et al. *Lancet ID* 2012;12:281-289.

D'ap. V. Le Moing; JNI 2012.

Efficacité clinique : résultats[1]



NI = non inferior

1) Duggan. *Drugs* 2011. 2) Louie, et al. *N Engl J Med* 2011;364:422-31. 3) Cornely, et al. *Lancet ID* 2012;12:281-289.

D'ap. V. Le Moing; JNI 2012.

Transplantation fécale

- Principe : **remplacement de la flore fécale altérée par une flore normale** prélevée chez un donneur sain
- Bilan chez le donneur : éliminer pathogènes transmissibles dont syphilis, hépatites virales et VIH
- **Modalités d'administration variables** avec une prédilection pour les lavements ; **l'administration dans l'intestin grêle semble pourtant préférable** (pas de risque de perforation, doses moindres)
- **3 essais comparatifs recensés** sur ClinicalTrials.gov dont l'essai FECAL (*Fecal therapy to Eliminate Clostridium difficile Associated Long-Standing diarrhea*) en cours aux Pays-Bas

D'ap. V. Le Moing; JNI 2012.

Principaux messages

- **L'arrêt des antibiotiques inducteurs chaque fois que possible est primordial et suffit souvent dans les cas les moins graves**
- **La supériorité du rapport bénéfice-risque de la vancomycine *vs* métronidazole est très plausible biologiquement mais pas totalement démontrée cliniquement**
- **La prévention des récurrences est le principal problème non résolu à ce jour**
- **En cas de récurrences multiples, en 1re approche actuellement : vancomycine à doses progressivement décroissantes puis ….**
- **Place de la fidaxomicine ?**
  - En 1re ligne ?
  - Chez sujets à risque de récurrence ?
  - Notamment si le traitement antibiotique inducteur doit être poursuivi ?
- **Transplantation fécale ???!!!**

D'ap. V. Le Moing; JNI 2012.

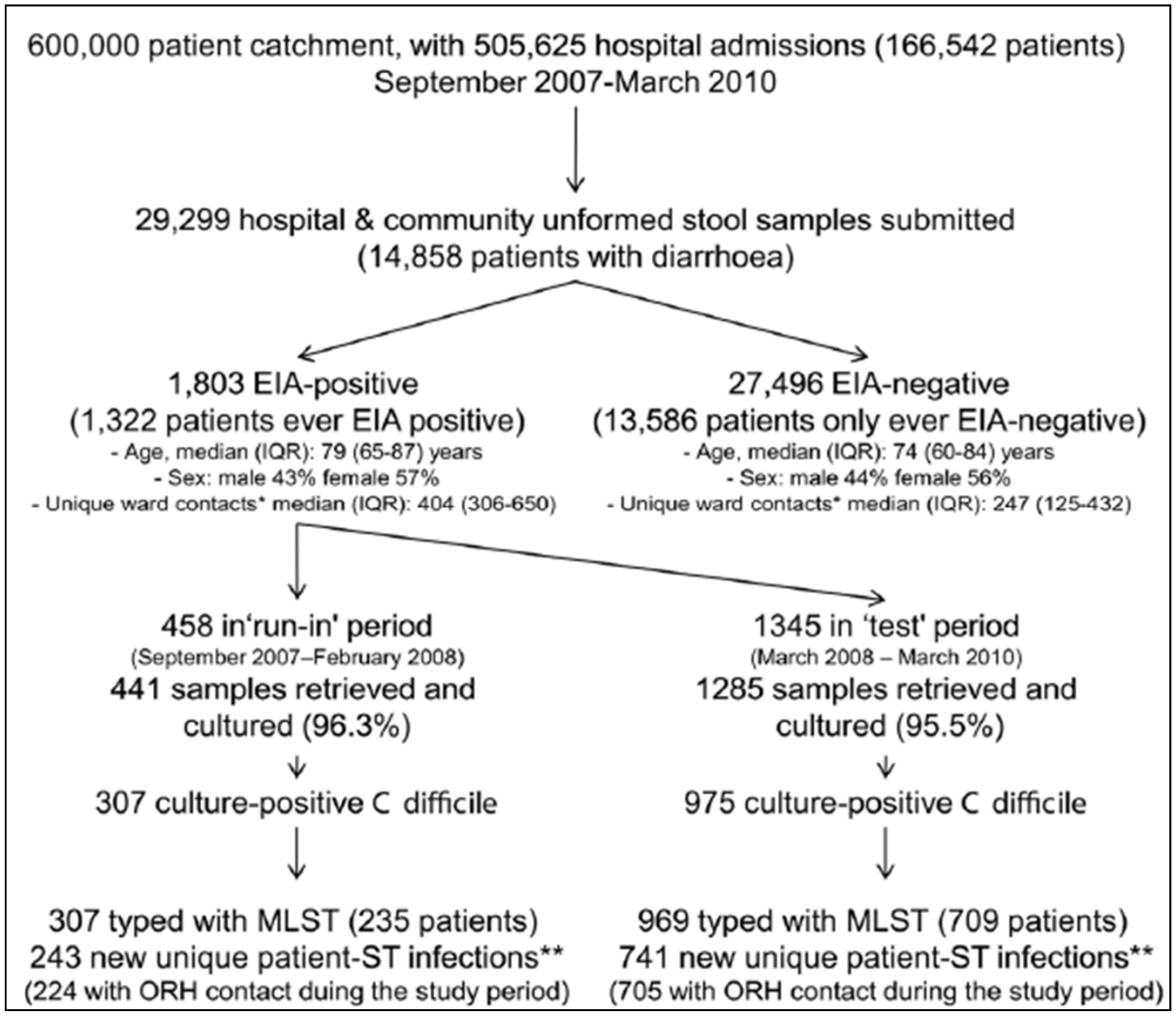
Bien faire le Dg. Mais pourquoi le faire vite ?

- **Pour la prise en charge thérapeutique spécifique**

- **Pour les mesures d'hygiène**

Caractérisation de génotypes au sein de *C. difficile* : Et si c'était un pathogène de transmission difficile (réf) !?

Walker et al., PLOS Medicine 2012 :



3 centres (1700 lits) suivis sur 2.5 ans (2007-2010) :

-1276 isolats *C. difficile* analysés

-pas plus de 25% des cas reliés à un autre patient hospitalisé !

Extension de l'étude précédente avec séquençage des génomes complets pour comparer les souches !!!

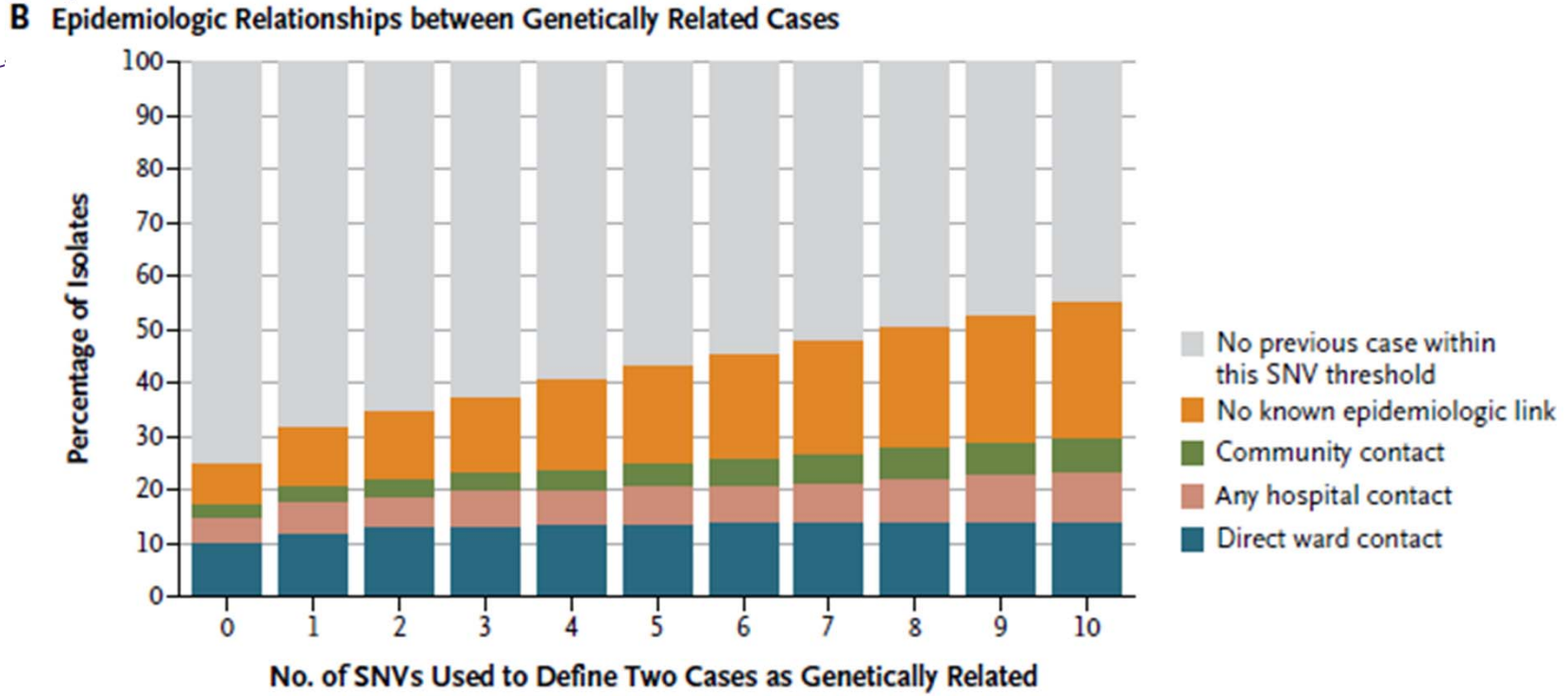


Figure 1. Genetic Variation and Epidemiologic Relationships among 957 Isolates Obtained from Patients with *Clostridium difficile* Infection.

Panel A shows the number of single-nucleotide variants (SNVs) between each sample obtained during the period from April 1, 2008, through March 31, 2011, and the most closely related previous sample obtained after September 1, 2007. Panel B shows the percentages of isolates that were classified as genetically related, according to the different SNV thresholds, along with the epidemiologic links between related isolates.

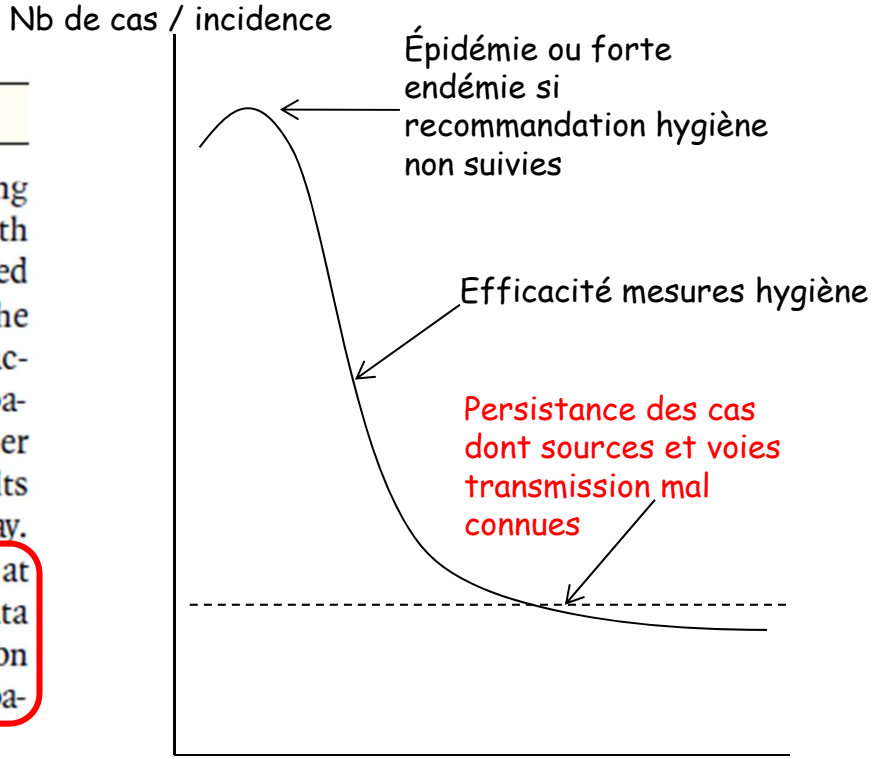
Si respect mesures d'hygiène, les cas résiduels résultent rarement d'une transmission entre patients !

d within a host over
he probability of ob-
Vs through evolution
period was less than
er of genetically dis-
occurred during the
subtypes as separated
all other cases (Fig. 3).
each subtype varied
ar clustering of cases
nces in which cases
re separated by long
12 cases, genetically
were recovered more
any intervening case.
lentified consistently

DISCUSSION

In a 3.6-year study of whole-genome sequencing of isolates from more than 1200 patients with *C. difficile* infection who were living in a defined geographic area with a typical incidence of the infection[21] and standard infection-control practices,[2] we found that a substantial number of patients had acquired *C. difficile* from sources other than symptomatic patients with positive results for *C. difficile* toxin on enzyme immunoassay. Only 35% of cases were genetically related to at least one previous case (i.e., ≤2 SNVs). These data show that in a majority of cases, *C. difficile* infection is not transmitted from another symptomatic pa-

N ENGL J MED 369;13 NEJM.ORG SEPTEMBER 26, 2013



45% des 1200 isolats étaient uniques ! C'est dire la diversité potentielle des sources d'acquisition !!

Contrôler ceftriaxone et cipro permet baisse importante incidence C diff.

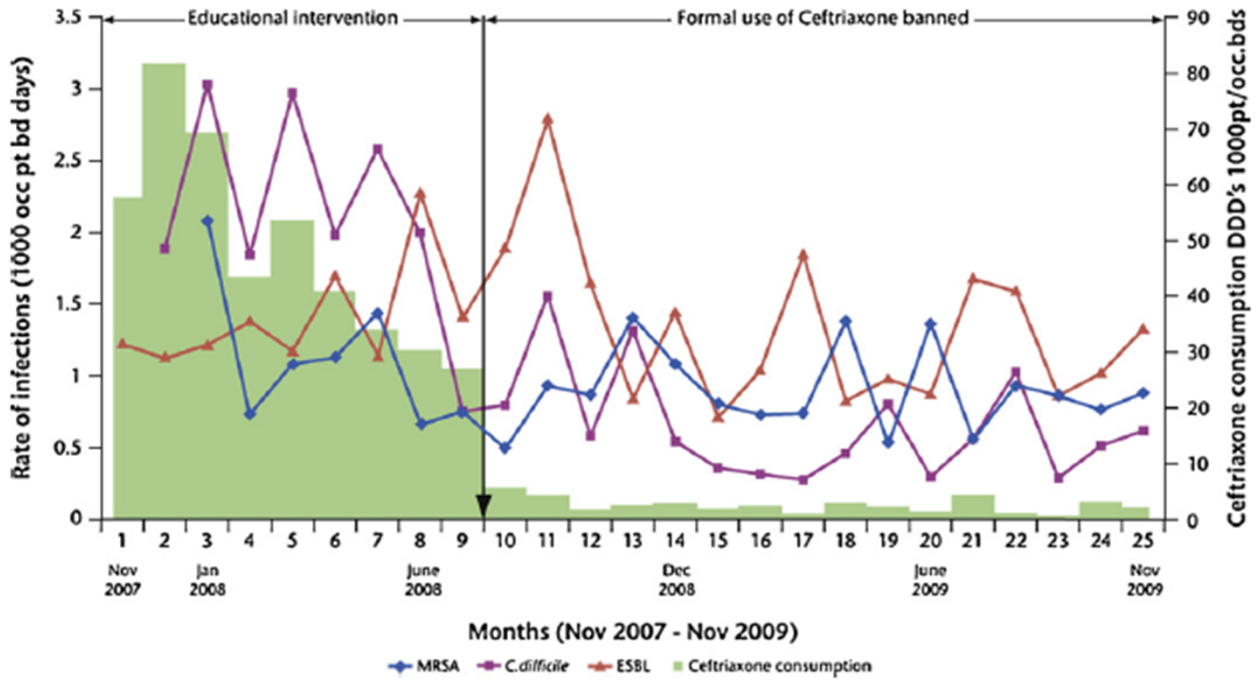


Fig. 1. Hospital-acquired meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Clostridium difficile* and extended-spectrum β-lactamase (ESBL)-producing coliform rates following a restrictive antibiotic policy in a district general hospital over 2 years. pt/occ.bds, patient-occupied bed-days; DDDs, defined daily doses.

Table 2
Correlation between antibiotic consumption and acquisition rate of target pathogens per 1000 patient-occupied bed-days over 2 years in a district general hospital.

Antibiotic or antibiotic class	*Clostridium difficile*		MRSA		ESBL-producing coliforms	
	Correlation	*P*-value	Correlation	*P*-value	Correlation	*P*-value
Ceftriaxone	0.83	<0.005	0.13	0.58	−0.02	0.92
Gentamicin	−0.70	<0.005	0.07	0.77	−0.30	0.14
Piperacillin/tazobactam	−0.06	0.77	−0.05	0.81	0.04	0.84
Amoxicillin	−0.65	<0.005	−0.13	0.56	−0.12	0.58
Amoxicillin/clavulanic acid	0.65	<0.005	0.06	0.78	0.11	0.61
Macrolides	−0.21	0.34	0.27	0.22	−0.17	0.43
Ciprofloxacin	0.48	0.02	−0.06	0.78	0.36	0.08
Meropenem	0.46	0.03	0.04	0.86	0.09	0.68

MRSA, meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*; ESBL, extended-spectrum β-lactamase.

Spatio-temporal stochastic modelling of *Clostridium difficile*

J.M. Starr [a,*], A. Campbell [b], E. Renshaw [b], I.R. Poxton [c], G.J. Gibson [d]

[a] *Geriatric Medicine Unit, University of Edinburgh, Edinburgh, UK*
[b] *Department of Statistics and Modelling Science, University of Strathclyde, Glasgow, UK*
[c] *Centre for Infectious Diseases, University of Edinburgh, Edinburgh, UK*
[d] *Maxwell Institute for Mathematical Sciences, School of Mathematical and Computer Sciences, Heriot-Watt University, Edinburgh, UK*

Received 6 February 2008; accepted 10 September 2008
Available online 17 November 2008

KEYWORDS
Clostridium difficile-associated diarrhoea;
Infection control;
Stochastic modelling

Summary *Clostridium difficile*-associated diarrhoea (CDAD) occurs sporadically or in small discrete outbreaks. Stochastic models may help to inform hospital infection control strategies. Bayesian framework using data augmentation and Markov chain Monte Carlo methods were applied to a spatio-temporal model of CDAD. Model simulations were validated against 17 months of observed data from two 30-bedded medical wards for the elderly. Simulating the halving of transmission rates of *C. difficile* from other patients and the environment reduced CDAD cases by 15%. Doubling the rate at which patients become susceptible increased predicted CDAD incidence by 63%. By contrast, doubling environmental load made hardly any difference, increasing CDAD incidence by only 3%. Simulation of different interventions indicates that for the same effect size, reducing patient susceptibility to infection is more effective in reducing the number of CDAD cases than lowering transmission rates.
© 2008 The Hospital Infection Society. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

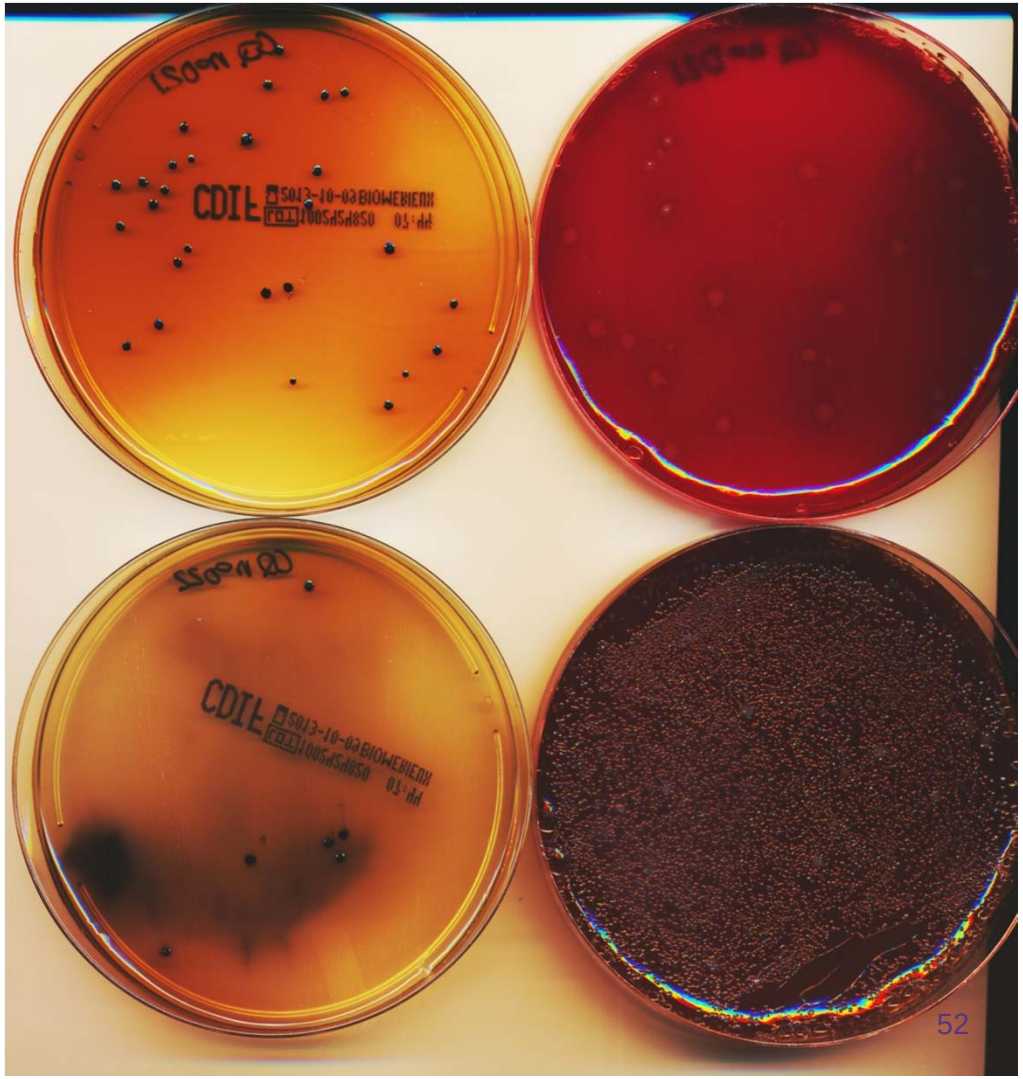
A quoi sert encore la culture en 2013 ? (!!!)

La sensibilité ?

A faire un antibiogramme ?

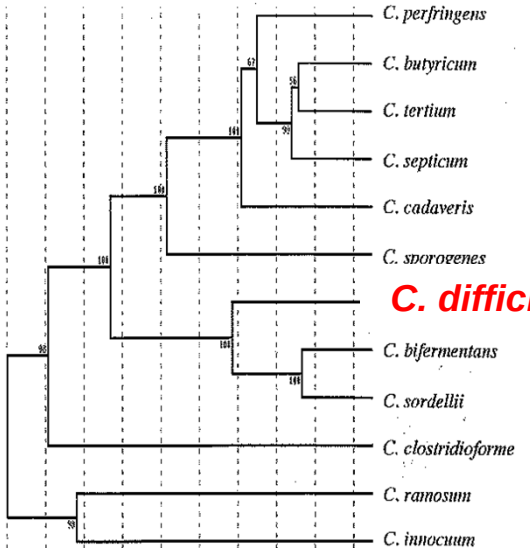
A caractériser les souches pathogènes ?

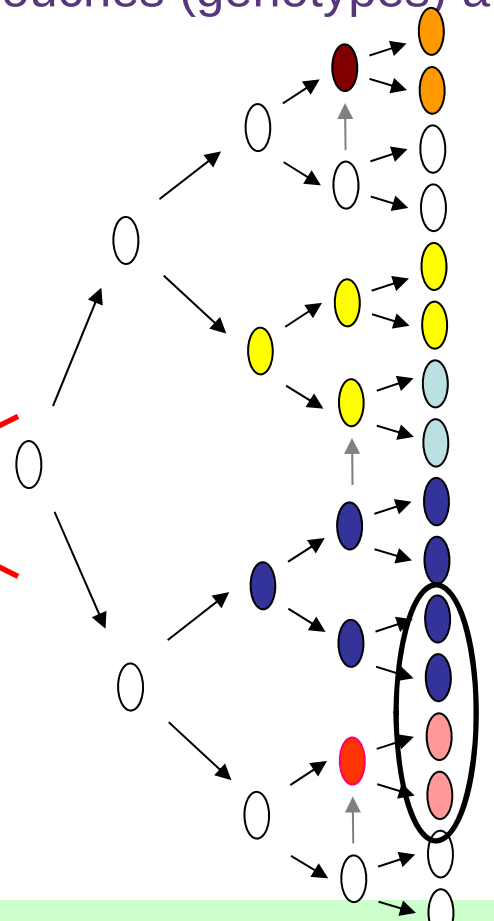
-micro-épidémiologie
-macro-épidémiologie



Epidémiologie « microbiologique » : qu'est ce que c'est ?

- Subdiviser l'espèce en souches (génotypes) avec caractéristiques spécifiques



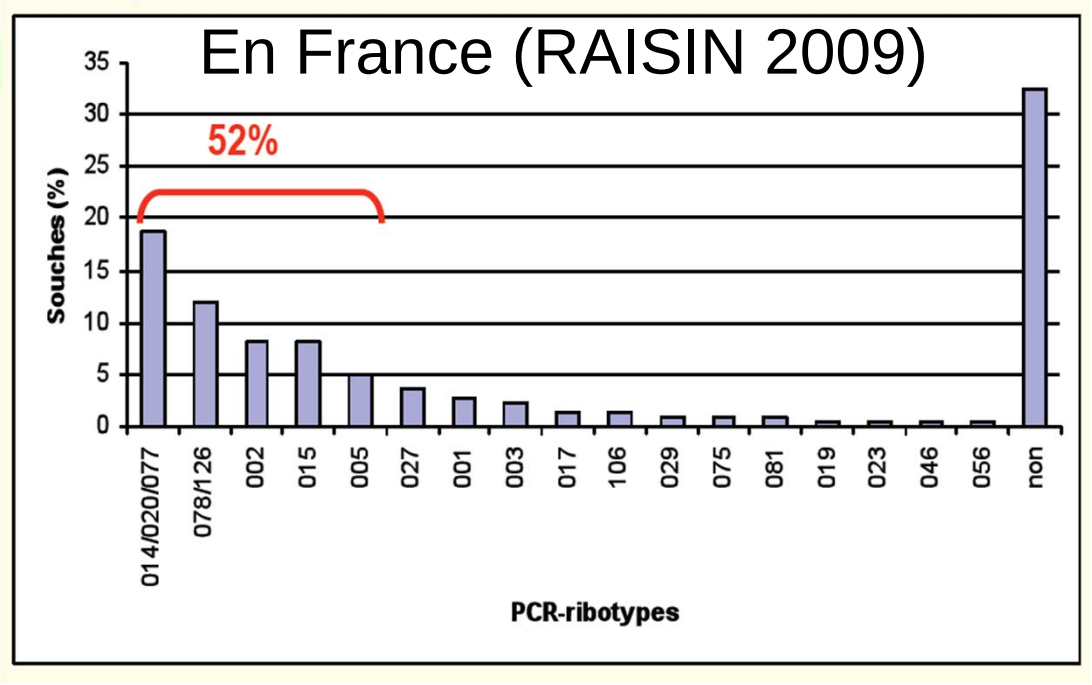


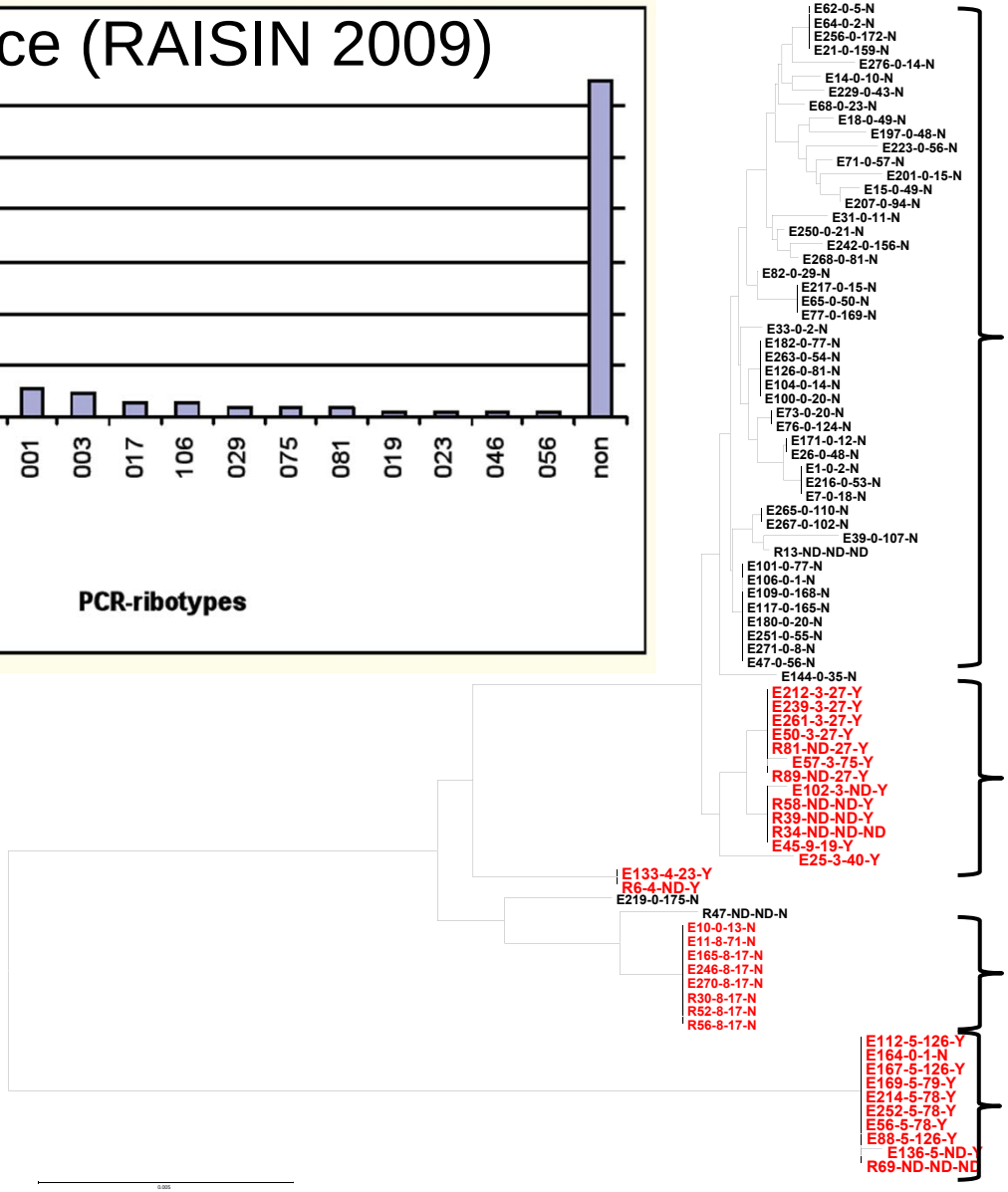
Taxonomy (inter-species)
(one housekeeping gene or specific gene)

Macro-epidemiology (intra-species)
(elements from the core of the genome)
ex : tox. III/PR027 strains, or tox. V/PR078 strains....

Micro-epidemiology (intra-lineage)
(hypervariable loci)
ex : subtyping 027 strains....

Caractérisation de génotypes au sein de *C. difficile* : les plus médiatisés…





Population générale, ex : PR014/020/077, PR001, PR002, PR012…

isolats A+B+CDT+ / Tox. III/PR027

isolats A-B+CDT- / Tox. VIII / PR017

isolats A+B+CDT+ / Tox. V / PR078/126

Caractérisation de génotypes au sein de *C. difficile* : un lien avec la sensibilité du diagnostic biologique ?

- Souches « A-B+ » de la fin des années 90
- Souche actuelle PR033 toxXI (A-B-Cdt+) ??

WOULD SENSITIVITY OF EIA METHODS DEPEND ON STRAIN GENOTYPES ? *(Tenover et al., JCM 2010)* ,

- Multicenter study
- 2296 diarrheic stools

Sensitivity Xpert vs GDH

Ribotype	Xpert *C. diff*	GDH	p
027	90,9	90,9	1.0
Non 027	91,7	69,4	0,0001

Sensitivity (%) Xpert vs EIA A+B

Ribotype	Xpert *C. diff*	EIA A+B	p
001	100	75	NS
002	100	15,4	<0,0001
017	90,9	63,6	NS
027	100	78,4	<0,0001
053	100	66,7	NS
078	81,8	63,6	NS
104	83,3	50	NS
106	75	18,8	0,004
autres	92,7	57,3	<0,0005

Caractérisation de génotypes au sein de *C. difficile* : un lien avec la virulence ? (et/ou le pouvoir épidémiogène)

Exemple du clone 027 :

-hyperproducteur *in vitro* des toxines A et B

-lien entre hyperproduction toxines et virulence chez le hamster (régulation /TcdC) *(Carter, PLOS Pathog 2011)*

-toxine binaire +
-domaines fonctionnels TcdB modifiés *(Lanis 2011)*

-meilleure sporulation *(Akerlund 2008)*
-résistant erythromycine, fluroquinolones

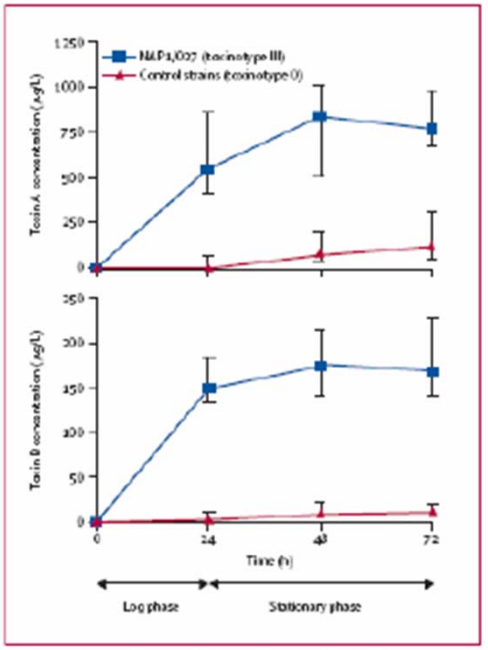


Figure 3: In vitro production of toxins A and B by *C difficile* isolates
Median concentration and IQRs are shown. *C difficile* strains included 25 toxinotype 0 and 15 NAP1/027 strains (toxinotype III) from various locations.

Warny M, Lancet 2005

J Clin Microbiol. 2011 Dec;49(12):4040-6. Epub 2011 Sep 28.

Lack of association between clinical outcome of Clostridium difficile infections, strain type, and virulence-associated phenotypes.

Sirard S, Valiquette L, Fortier LC.

Département de Microbiologie et d'Infectiologie, Faculté de Médecine et des Sciences de la Santé, Université de Sherbrooke, 3001 12e Ave. Nord, Sherbrooke, Québec, Canada J1H 5N4.

Hypervirulente ??? En tous cas très épidémiogène

- 20 souris dans une même cage !
- 2 excrétrices de PR12, 2 de PR17, 2 de PR027, 14 indemnes
- On revient 14j + tard !

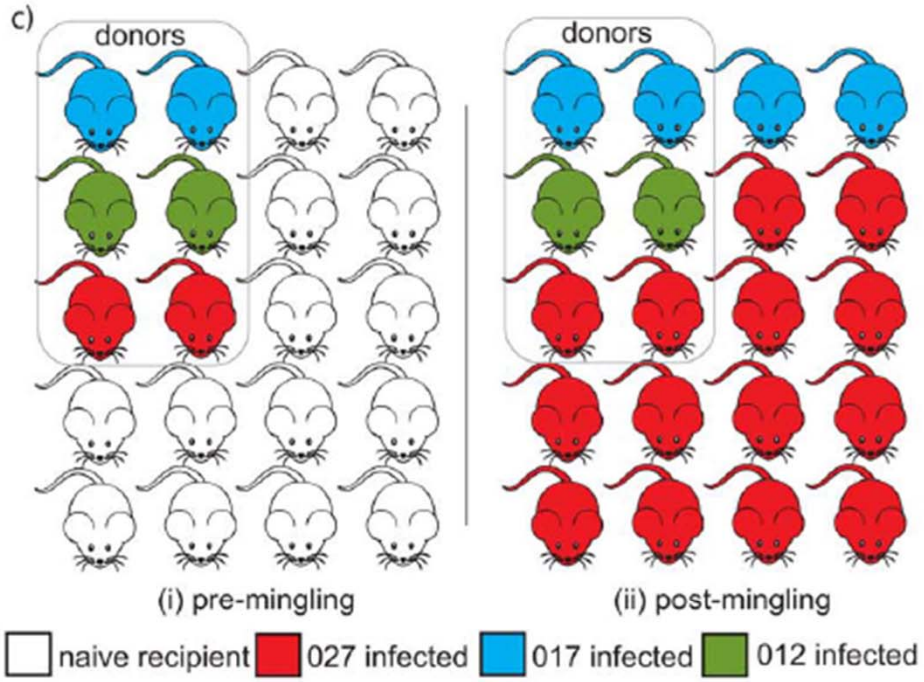


Figure 1. Epidemic *C. difficile* 027/BI causes persistent infection with enhanced transmissibility compared to other virulent variants. a) Representative fecal shedding patterns from C57BL/6 mice (n = 5 mice per group) simultaneously treated with clindamycin and exposed to human virulent *C. difficile* spores to mimic natural transmission. Mice were infected with *C. difficile* ribotype 027 (strain BI-7; n = 300), 017 (strain M68; n = 240)

Caractérisation de génotypes au sein de *C. difficile* : un lien avec la résistance aux antibiotiques ?

-Lien avec ATB sélectionnant +++ (ex souches 027 FQ-R)

-Mais peu ou pas de résistance aux ATB de traitement spécifique

-Glycopeptides : rares alertes non confirmées

-Métronidazole :

-Des échecs cliniques décrits, mais sans documentation microbiologique

-Résistantes vraies rares : souches animales, non toxinogènes

Table 1. SGE metronidazole MICs (mg/L) for *C. difficile* isolated at the Leeds General Infirmary in 2005–06

MIC	Ribotype 001 ($n = 86$)	Ribotype 106 ($n = 81$)	Ribotype 027 ($n = 48$)	10 most prevalent other ribotypes ($n = 57$)
MIC_{50}	4.16	1.03	0.80	0.21
MIC_{90}	15.89	1.82	1.40	2.09
Range	0.27–15.90	0.36–2.57	<0.15–4	<0.15–14.50
Geometric mean	3.51*	1.11	0.90	0.32

*$P < 0.001$.

Baines, JAC 2008

Caractérisation de génotypes au sein de *C. difficile* : lien avec risque d'échec thérapeutique ? De récidive ?

Petrella et al, CID 2012 : 999 patients, 34% REA group BI (=027), vanco ou fidaxo

succès clinique : 86.6% (BI) vs 94.3% (non BI)

récurrences : 27.4% (BI) vs 16.6% (non BI)

Table 5. Multivariate Analysis of Factors Likely to Influence Clinical Cure or Recurrence (Per-Protocol Population, N = 999)

			Clinical Cure			Recurrence		
Variable	Test	Reference	OR	95% CI	*P* Value	OR	95% CI	*P* Value
REA group	BI group	Non-BI group	0.48	.27–.85	.03	1.57	1.01–2.45	.046
	No isolate	Non-BI group	0.68	.39–1.19	.95	0.91	.57–1.47	.70
Age	≥65	<65	0.88	.55–1.41	.58	1.36	.93–1.98	.11
CDI history	One prior episode[b]	No prior episode	NA[c]	NA	NA	1.82	1.15–2.87	.01
Region	Canada	United States	2.29	1.29–4.07	.01	1.37	.91–2.07	.13
	Europe	United States	1.12	.60–2.09	.34	0.78	.43–1.39	.14
Antibiotic history prior to CDI treatment	Yes	No	0.79	.42–1.49	.47	NA	NA	NA
CA during treatment period[a]	Yes	No	0.63	.38–1.03	.06	…	…	…
CA during treatment or follow-up period[a]	Yes	No	…	…	…	1.57	1.03–2.39	.04
Comorbidity[d]	Yes	No	0.39	.19–.80	.01	NA	NA	NA
Treatment	Fidaxomicin	Vancomycin	1.21	.78–1.90	.40	0.45	.31–.65	<.0001

Caractérisation de génotypes au sein de *C. difficile* : de nouvelles sources de contamination ?

Hensgens et al., CMI 2012 :

"*Clostridium difficile* infection in the community: a zoonotic disease?"

TABLE 2. ***Clostridium difficile*** **in animal species**

Animal species	Predominant ribotype	Frequency, *N* type/ total (%)	Study period	References
Dogs	010	5/12 (42)	2007 (published)	Keel *et al.* [5959]
	010	12/29 (41)	2009–2010	Koene *et al.* [60]
	001	4/14 (29)	2005–2006	Weese *et al.* [58]
	014	7/29 (24)	2009–2010	Koene *et al.* [60]
Cats	010	9/18 (50)	2009–2010	Koene *et al.* [60]
	039	5/18 (28)	2009–2010	Koene *et al.* [60]
Horses	015	6/20 (30)	2007 (published)	Keel *et al.* [5959]
Pigs	078	33/33 (100)	2008 (published)	Debast *et al.* [7979]
	078	66/66 (100)	2009	Keessen *et al.* [73]
	078	93/144 (84)	2007 (published)	Keel *et al.* [5959]
	078	7/9 (78)	2009–2010	Koene *et al.* [60]
	066	166/247 (67)	2009 (published)	Avbersek *et al.* [61]
	066	66/133 (50)	2008 (published)	Pirs *et al.* [110]
	SL011[a]	74/247 (30)	2009 (published)	Avbersek *et al.* [61]
	SL011[a]	31/133 (23)	2008 (published)	Pirs *et al.* [110]
	126	16/144 (11)	2007 (published)	Keel *et al.* [5959]
	002	6/144 (4)	2007 (published)	Keel *et al.* [5959]
	029	7/247 (3)	2009 (published)	Avbersek *et al.* [61]
Cattle	078	31/33 (94)	2007 (published)	Keel *et al.* [5959]
	078	31/33 (94)	2008 (published)	Hammitt *et al.* [111]
	012	5/6 (83)	2009–2010	Koene *et al.* [60]
	017	8/31 (26)	2004	Rodriguez-Palacios *et al.* [71]
	078	7/31 (23)	2004	Rodriguez-Palacios *et al.* [71]
	027	4/31 (13)	2004	Rodriguez-Palacios *et al.* [71]
	014	4/31 (13)	2004	Rodriguez-Palacios *et al.* [71]

TABLE 3. ***Clostridium difficile*** **in food products**

	Country	Sample material	*N* positive samples/*N* tested samples (%)	*N* toxinogenic/*N* all isolates (%)	RT 078 or related strains[a] (%)	RT 027 or related strains[b] (%)
Retail beef and veal						
North America	Canada	Ground meat	12/60 (20.0)	11/12 (91.2)	–	8/12 (66.7)
	Canada	Ground beef and veal chops	13/214 (6.1)	12/15 (80.0)	–	4/15 (26.7)
	USA	Cooked/uncooked beef	14/33 (42.4)	14/14 (100)	10/14 (71.4)	4/14 (28.6)
	Canada	Ground beef	14/115 (12.2)	14/14 (100)	12/14 (85.7)	1/14 (7.1)
	USA	Ground veal	4/50 (8.0)	3/4 (75.0)	NT	NT
Europe	Sweden	Ground beef	2/82 (2.4)	2/2 (100)	NT	NT
	France	Ground beef	2/105 (1.9)	2/2 (100)	–	–
	Austria	Ground beef	0/30 (0)	–	–	–
		Ground beef/pork	3/70 (4.3)	1/3 (33.3)	–	–
	The Netherlands	Beef/calf	0/164 (0)	–	–	–
	Switzerland	Ground beef/pork	0/46 (0)	–	–	–
Retail pork						
North America	USA	Cooked/uncooked pork	19/46 (41.3)	19/19 (100)	13/19 (68.4)	6/19 (31.6)
	Canada	Ground pork	14/115 (12.2)	14/14 (100)	10/14 (71.4)	1/14 (7.1)
	Canada	Ground pork and pork chops	7/393 (1.8)	6/7 (85.7)	–	4/7 (57.1)
	USA	Pork and swabs	23/243 (9.5)	23/23 (100)	22/23 (95.6)	–
Europe	Austria	Pork	0/27 (0)	–	–	–
	Austria	Ground beef/pork	3/70 (4.3)	1/3 (33.3)	–	–
	France	Pork sausage	0/59 (0)	–	–	–
	Switzerland	Ground beef/pork	0/46 (0)	–	–	–
	The Netherlands	Pork	0/63 (0)	–	–	–

Conclusion

- Une épidémiologie en constante évolution (avec un impact potentiel sur les stratégies diagnostiques)
- Pour cela la culture garde un intérêt, mais pas en 1ere ligne
- Un diagnostic bactériologique actuellement difficile (algorithme), ou coûteux (!), ou les 2 !! (pour une cotation NABM peu généreuse!)
- Toujours confrontation avec la clinique