

DU Hygiène - 01/02/2018



Infections à Clostridium difficile

Actualités diagnostiques et épidémiologiques

Pr Hélène Marchandin

Laboratoire de Bactériologie, CHU de Nîmes, Université de Montpellier

Clostridium difficile : quelques rappels

- Bactérie connue depuis 1935,
- Pouvoir pathogène attribué : fin années 70
→ Colite pseudo-membraneuse (CPM)
- Responsable de :
 - > 95% des CPM
 - 20-25% diarrhées simples post-antibiotiques
 - 10 % diarrhées nosocomiales



2



CPM (7-9% des infections)

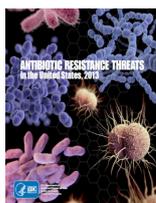
1 à 50% (formes compliquées) décès

Infections extra-intestinales exceptionnelles
(arthrite, ostéomyélite, abcès abdominal, bactériémie)

3

Importance des infections à *C. difficile* (ICD)

• Etats-Unis



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

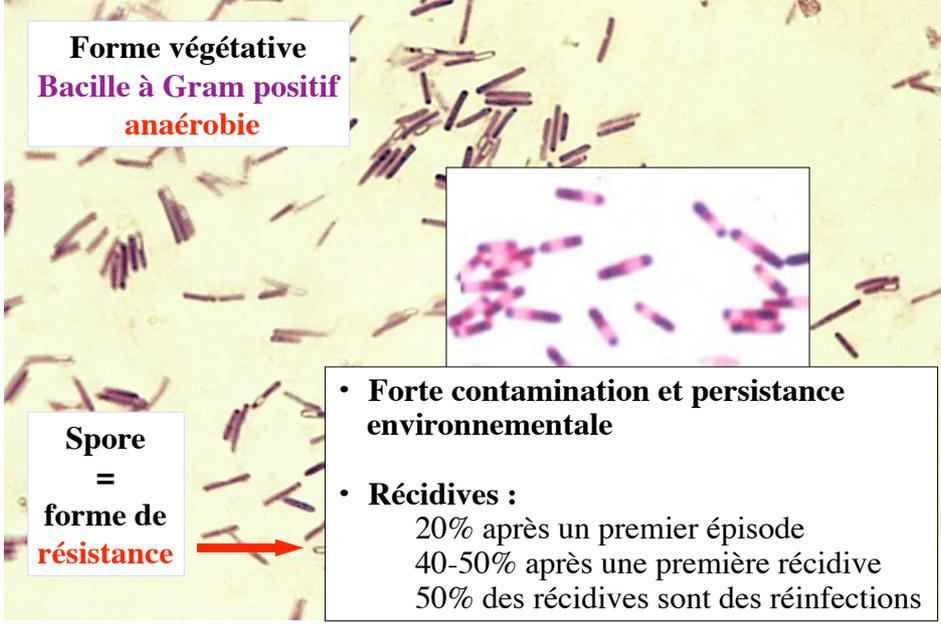
■ Europe



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

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

4



Forme végétative
Bacille à Gram positif
anaérobie

Spore
=
forme de
résistance →

- **Forte contamination et persistance**
environnementale
- **Récidives :**
20% après un premier épisode
40-50% après une première récurrence
50% des récurrences sont des réinfections

5

- **Facteurs de virulence : Production de toxines :**

A	Entérotoxine	Action synergique sur la muqueuse	+/- toxine binaire
B	Cytotoxine		

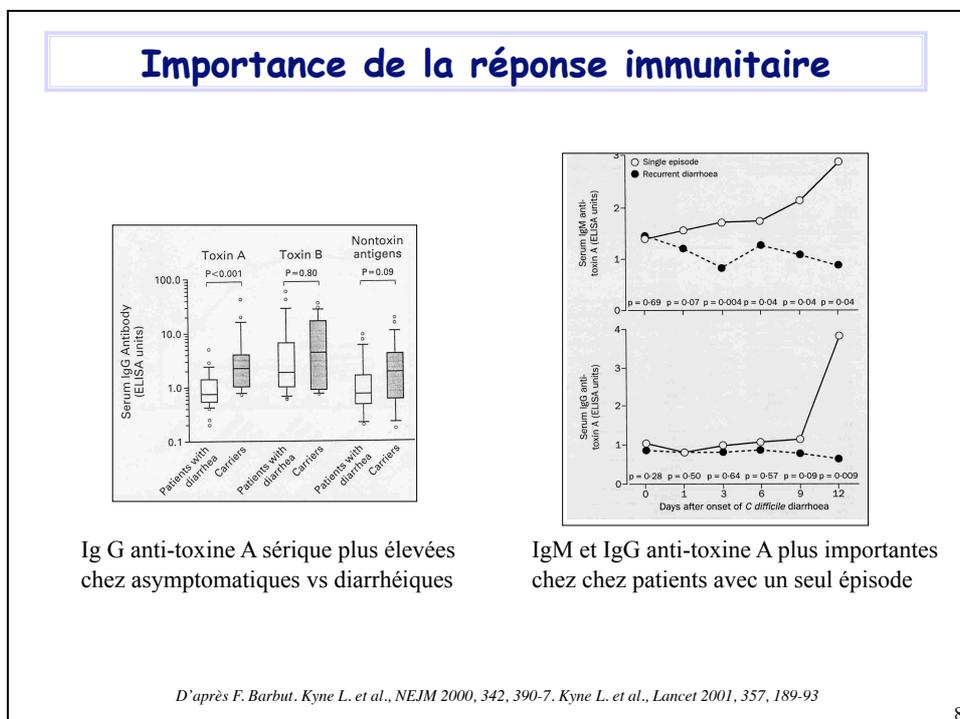
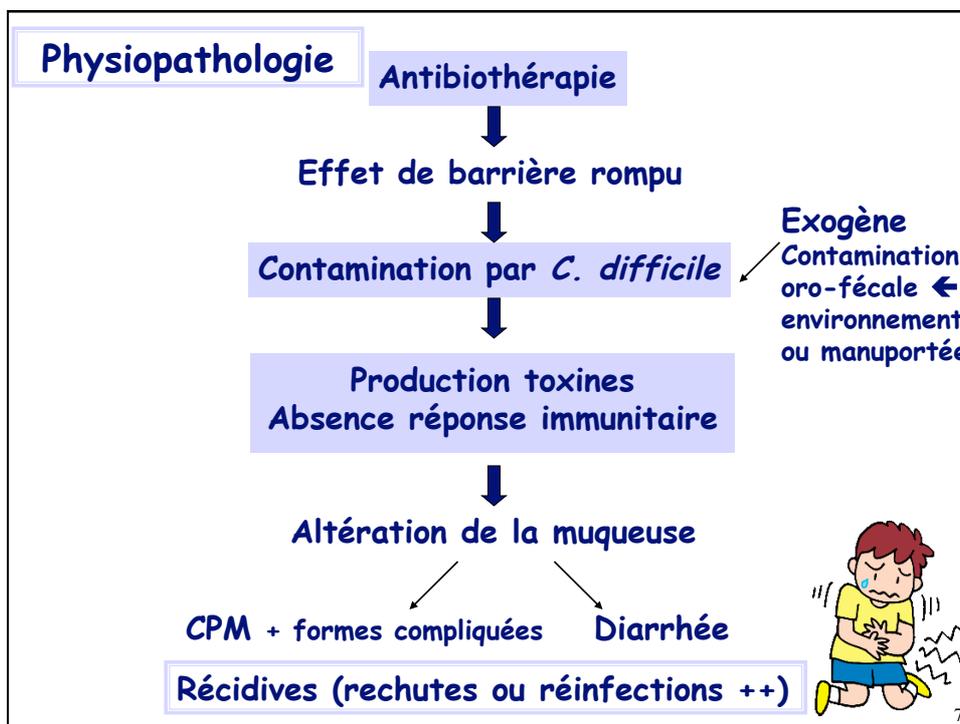
Souches non toxigènes non pathogènes

- **Souches toxigènes le plus souvent pathogènes**

Portage asymptomatique :

5-70 % nourissons < 2ans
2 ans - Adulte : < 3 %

6



Facteurs de risque d'ICD

- **Facteurs individuels :**

- **Age > 65 ans**
- **Co-morbidités** maladies rénales, cancer, immunodépression
- **Récente hospitalisation** exposition à des spores
- **Prescription antibiotique (durée +++)**

Fréquemment associés	Occasionnellement associés	Peu inducteurs
Ampicilline Amoxicilline Céphalosporines Clindamycine Fluoroquinolones	Sulfonamides Macrolides Triméthoprim	Aminosides Métronidazole Vancomycine Tétracycline Chloramphénicol

9

Facteurs de risque d'ICD (2)

- **En milieu hospitalier :** pathogène nosocomial important

- **Très forte contamination de l'environnement**
- **Persistance dans l'environnement**
forme sporulées = forme de résistance
- **Promiscuité des patients**
- **Fréquence des soins**
- **Pression de sélection antibiotique**
- **Retard à la mise en place de mesures de prévention de la dissémination**

10

Actualités diagnostiques





Quand ? Comment ?




11

Recommandations actuelles

- **Quand** conduire le diagnostic bactériologique d'une ICD
 - Systématiquement devant :
 - diarrhée nosocomiale (> 72h) même sans prescription
 - diarrhée post-ATB
 - toute diarrhée sans autre étiologie
- **Comment** conduire le diagnostic bactériologique d'1 ICD :
 - Echantillons**
 - Uniquement selles diarrhéiques
= prenant la forme du pot
 - Eviter écouvillons rectaux et biopsies (- sensible pour les toxines)
 - Conservation à 4°C

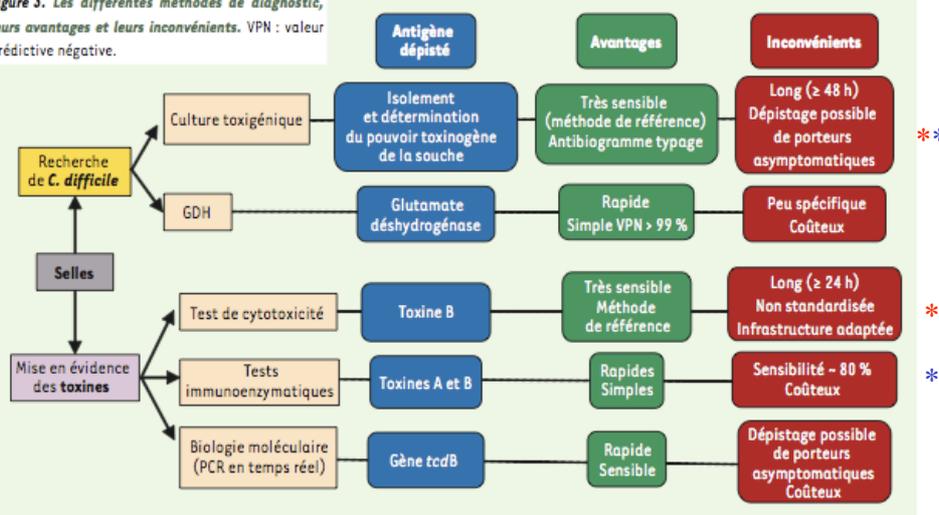


12

Crobach MJT et al. Clin Microbiol Infect 2009; 15: 1053–66

Diagnostic bactériologique : les moyens actuels

Figure 3. Les différentes méthodes de diagnostic, leurs avantages et leurs inconvénients. VPN : valeur prédictive négative.



* Méthodes de référence

* Méthodes utilisées jusqu'alors au CHRU

13

Eckert C & Barbut F. Infections à *Clostridium difficile*. Médecine/Sciences 2010 ; 26 : 153-8.

Recherche de *C. difficile*

Culture toxigénique



C. difficile



Détection de la GDH

GDH = glutamate déshydrogénase

enzyme spécifique de *C. difficile*

→ mise en évidence de la bactérie dans les selles



14

MEE des **toxines libres** dans selles

Trousses recherchant toxines A + B



A+ B > A seule (ne sont plus recommandées)

Souches A- / B+ pathogènes (1 à 10% selon les pays) 15

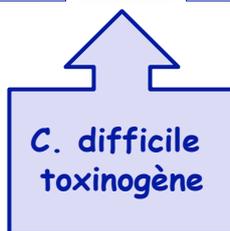
Tests de détection des toxines A/B et de la GDH



C. difficile
non toxigène



Absence
de *C. difficile*



< 30 minutes

Ex : TechLab® C.diff Quik Chek Complete™

MEE des gènes codant les **toxines**

Tests de biologie moléculaire

- Amplification génique / PCR en temps réel :

Trousses commercialisées:

Mix PCR pour PCR-TR (fournisseurs multiples)

Xpert® C. difficile (Cepheid)

VIDAS® CDAB (bioMérieux)

PCR GeneOhm Cdiff A&B (BD)

...

- Amplification isothermique :

LAMP (Loop Mediated Isothermal Amplification)

Test illumigene™ (Meridian) (zone conservée 5' gène *tcdA* codant toxine A présente chez souches A-/B+)

17

Possibilité de Biologie délocalisée



18

Aucune méthode isolément ne répond à toutes les attentes

sensibilité, spécificité, VPN, VPP, rapidité, coût

Stratégies de détection non équivalentes

- **optimales** : avec détection toxines libres dans les selles (EIA) significativement associée à évolution défavorable

Planche *et al.* Lancet Infect Dis. 2013. Polage *et al.*, JAMA Inter Med 2015

- suboptimales / incomplètes

Tableau III. Classification des stratégies diagnostiques des infections à *Clostridium difficile*.

	Test de dépistage	Test de confirmation
Stratégie optimale Détection des toxines libres ET d'une souche toxigène ou des gènes codant les toxines (stratégie sensible et spécifique)	Méthode moléculaire GDH et <u>détection des toxines (IEA)</u>	<u>Détection des toxines (IEA)</u> Méthode moléculaire ou culture toxigénique
Stratégie suboptimale Détection d'une souche toxigène ou des gènes codant les toxines (stratégie sensible mais moins spécifique qu'une stratégie optimale)	GDH Méthode moléculaire	Méthode moléculaire ou culture toxigénique Aucun
Stratégie incomplète	Autres algorithmes	

IEA : test immunoenzymatique.

La Lettre de l'Infectiologie • Tome XXX - n° 6 - novembre-décembre 2015

19

Recommandations ESCMID : 2009 → actualisées en 2016

European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases:
update of the diagnostic guidance document for *Clostridium difficile* infection

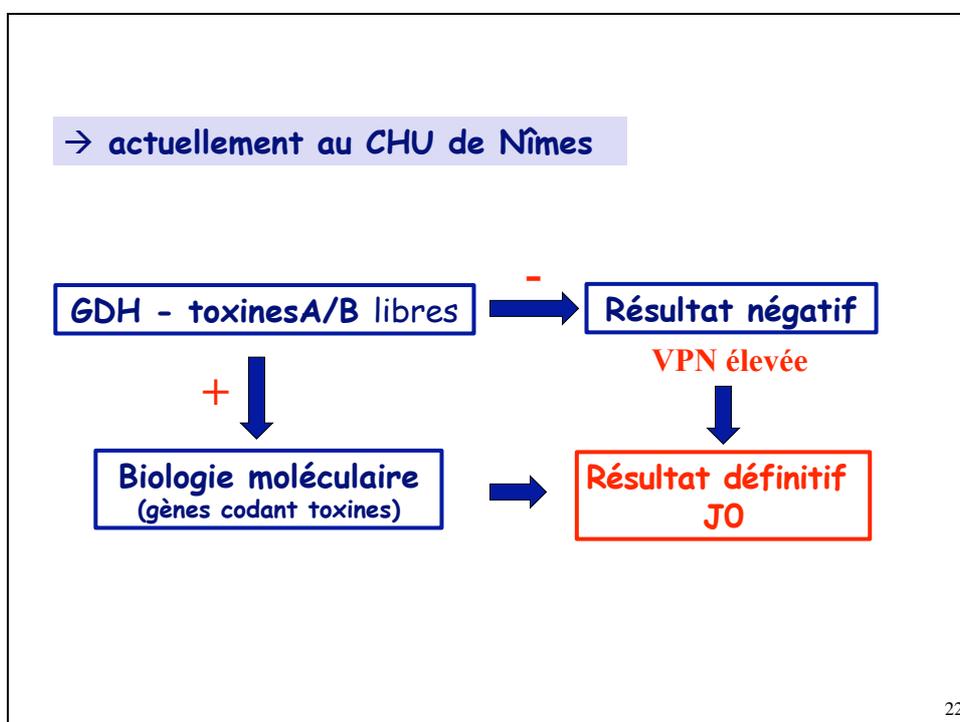
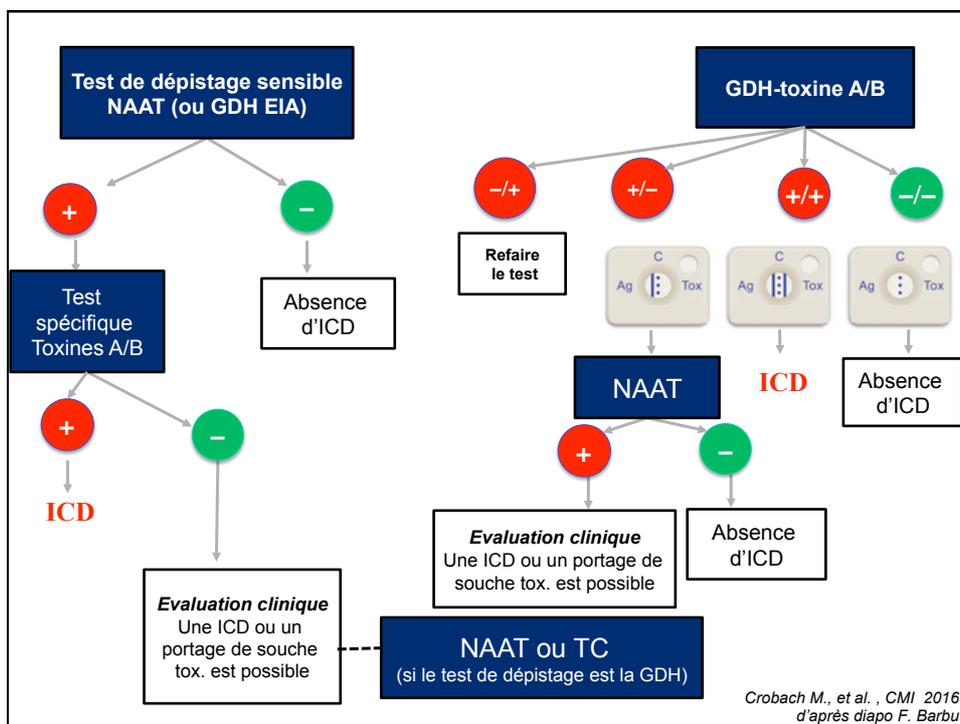
M.J.T. Crobach¹, T. Planche⁴, C. Eckert⁵, F. Barbut⁵, E.M. Terveer¹, O.M. Dekkers^{2,3},
M.H. Wilcox⁶, E.J. Kuijper^{1,*}

Clinical Microbiology and Infection 22 (2016) S63–S81

Algorithme - plusieurs étapes

- 1 méthode sensible de dépistage
- 1 méthode de confirmation plus spécifique

20



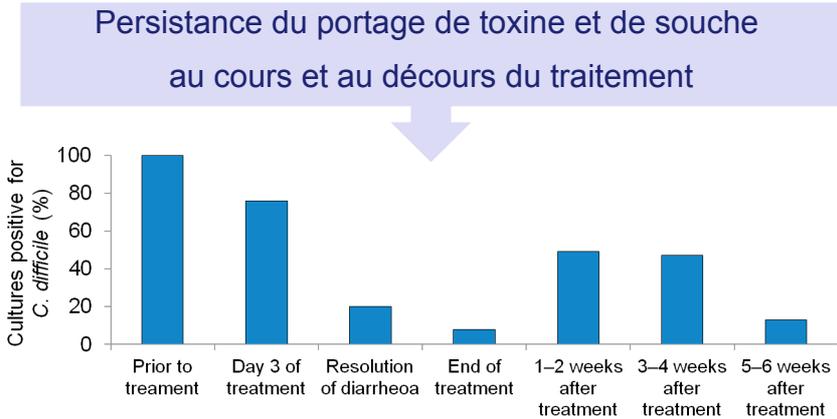
Recherche de Clostridium difficile et des toxines A/B dans les selles	
Recherche de C.difficile (protéine GDH):	Négative
Recherche des toxines A et/ou B:	Négative
<i>Immunochromatographie sur membrane</i>	
Conclusion:	Recherche Négative. Absence de Clostridium difficile.
	
Recherche de Clostridium difficile et des toxines A/B dans les selles	
Recherche de C.difficile (protéine GDH):	POSITIVE
Recherche des toxines A et/ou B:	POSITIVE
<i>Immunochromatographie sur membrane</i>	
Conclusion:	Recherche Positive. Présence d'une souche toxigène de C. difficile.
	

25

A ne pas faire par la suite +++ :

- répéter les coprocultures
- contrôle microbiologique de l'efficacité du traitement

Persistance du portage de toxine et de souche au cours et au décours du traitement



Time Point	Percentage (%)
Prior to treatment	100
Day 3 of treatment	75
Resolution of diarrhoea	20
End of treatment	10
1-2 weeks after treatment	50
3-4 weeks after treatment	45
5-6 weeks after treatment	15

(Sethi *et al.* ICHE 2010)

26

Presse Med. 2015; 44: e75-e83
en ligne sur / on line on
www.sciencedirect.com/journal/psm
www.sciencedirect.com

Article original

 **Prévalence des infections à *Clostridium difficile* chez les patients hospitalisés avec une diarrhée : résultats d'une étude française prospective multicentrique[☆]**

Frédéric Barbut^{1,2,3}, Laetitia Ramé¹, Amandine Petit^{2,3}, Laina Suzon^{2,3}, Alix de Chevigny¹, Catherine Eckert^{2,3}, pour le réseau français EUCLID¹

Reçu le 1^{er} avril 2014
Accepté le 22 septembre 2014
Disponible sur internet le :
28 février 2015

1. Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, hôpital Saint-Antoine, unité d'hygiène et de lutte contre les infections nosocomiales, 75012 Paris, France
2. Laboratoire *Clostridium difficile* associé au CNR des bactéries anaérobies et du botulisme, 75012 Paris, France
3. Groupe de recherche clinique n° 2 EPIIDFF, université Pierre-et-Marie-Curie, site Saint-Antoine, 75012 Paris, France

Objectifs :

- déterminer l'incidence et la prévalence des ICD
- évaluer l'ampleur du sous-diagnostic en France

27

Prévalence des infections à *Clostridium difficile* chez les patients hospitalisés avec une diarrhée : résultats d'une étude française prospective multicentrique[☆]

Presse Med. 2015; 44: e75-e83

70 ES

**Envoi CNR :
TOUTES selles
diarrhéiques**

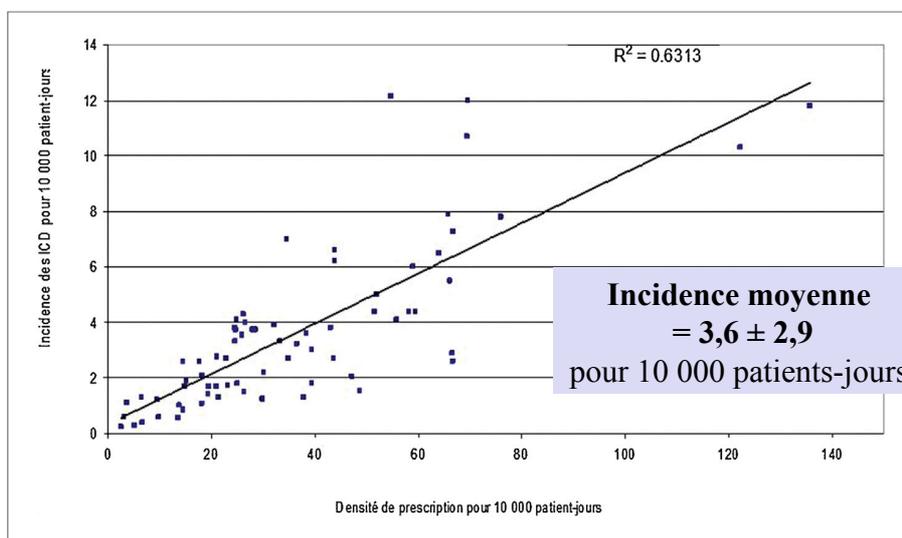
**Indépendamment de
la prescription
de la recherche de CD**

2 journées (2012-13)



28

Incidence positivement corrélée à la densité de prescription (nb de tests réalisés pour 10 000 patients-jours)



→ Incidence en ↗ / 2009 : 2,3 cas pour 10 000 JH
< aux autres pays Européens

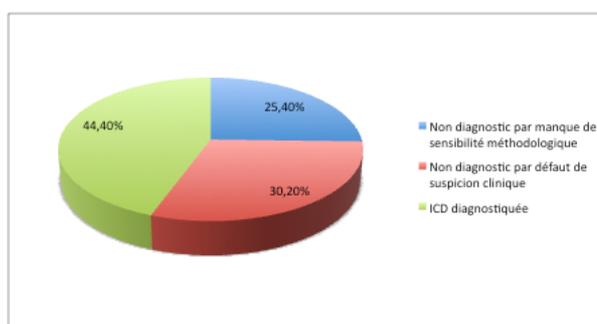
29

Résultats principaux de l'étude

• Prévalence :

1 patient diarrhéique hospitalisé **sur 10** environ a une ICD (prévalence de souches toxigènes : 9,7 %)

• Sous-estimation majeure : 55,6% ICD non diagnostiquées



30

Underdiagnosis of *Clostridium difficile* across Europe: the European, multicentre, prospective, biannual, point-prevalence study of *Clostridium difficile* infection in hospitalised patients with diarrhoea (EUCLID)

Davies *et al.* Lancet Infect Dis. 2014. 14:1208-19

- **Même étude:** 20 pays, 482 hôpitaux
- **Utilisation de méthodes non optimales : 3/5 des ES**
68% en 2011-12 ↘ 52% en 2012-13
- **Sous-estimation majeure :**

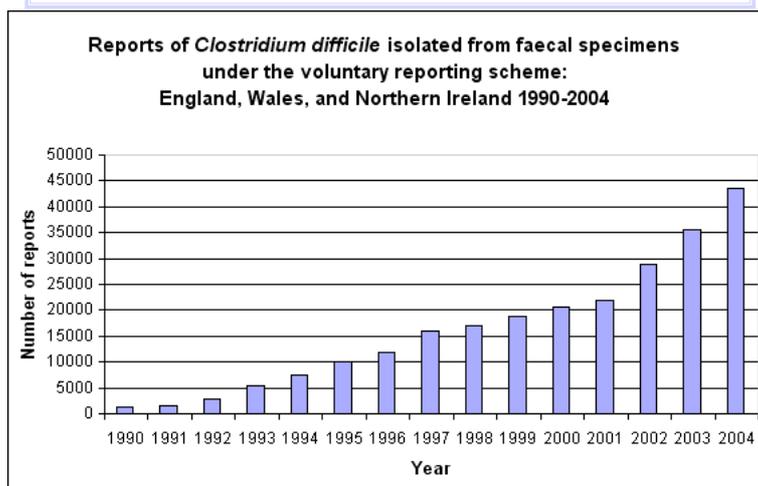
74 ICD non diagnostiquées par les ES / j

« Absence of clinical suspicion and suboptimum laboratory diagnostic methods mean that an estimated **40 000 inpatients** with CDI are potentially **undiagnosed every year in 482 European hospitals** ».

31

Epidémiologie

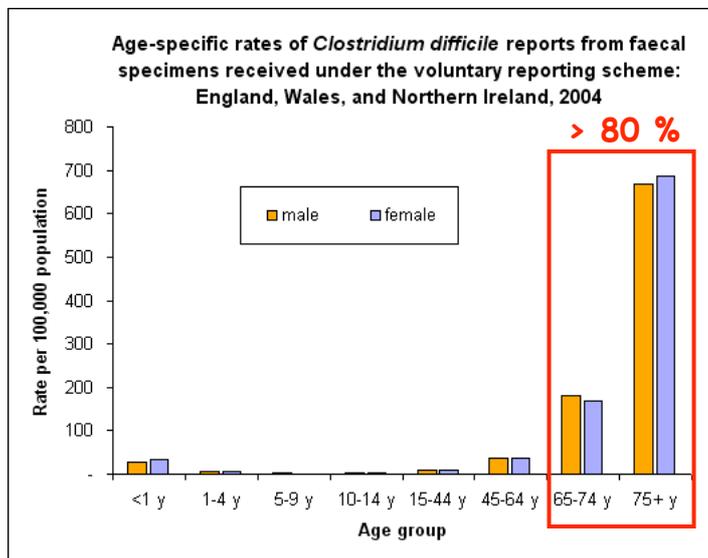
Evolution des infections à *C. difficile*



x 6 en 10 ans

32

Taux d'infections à *C. difficile* selon l'âge



33

Evolution de l'épidémiologie des ICD

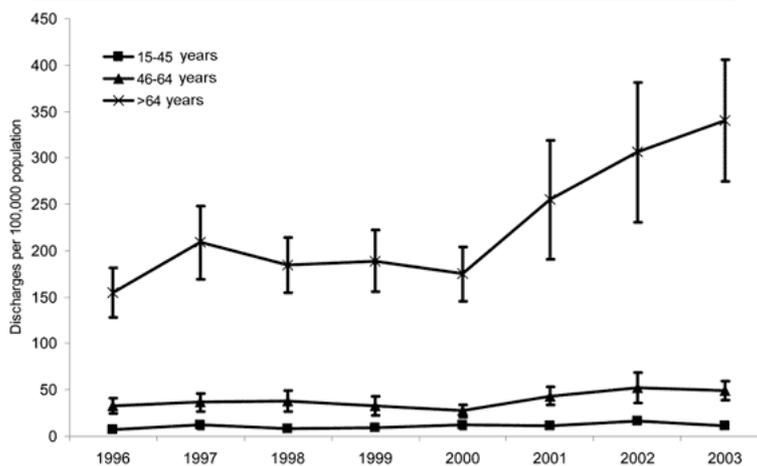


Figure USA
x 5 en 10 ans Québec, ...

↗ constante incidence

34

McDonald et al., EID, 2006

↗ **sévérité formes cliniques**

18,2 % formes compliquées

↗ **létaleté**

13% (30j) - 16,7% (1 an) Québec, > 65 ans +++

Moins bonne réponse au traitement par métronidazole



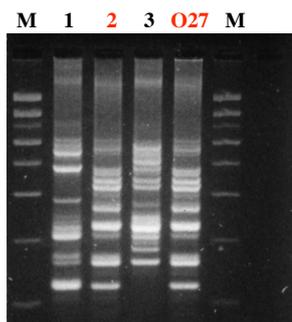
Emergence et dissémination rapide d'un nouveau clone virulent : 2 souches / 3 Québec, 51% USA

35

Emergence et diffusion d'un nouveau clone épidémique

Souche particulière

PCR-ribotype dit O27

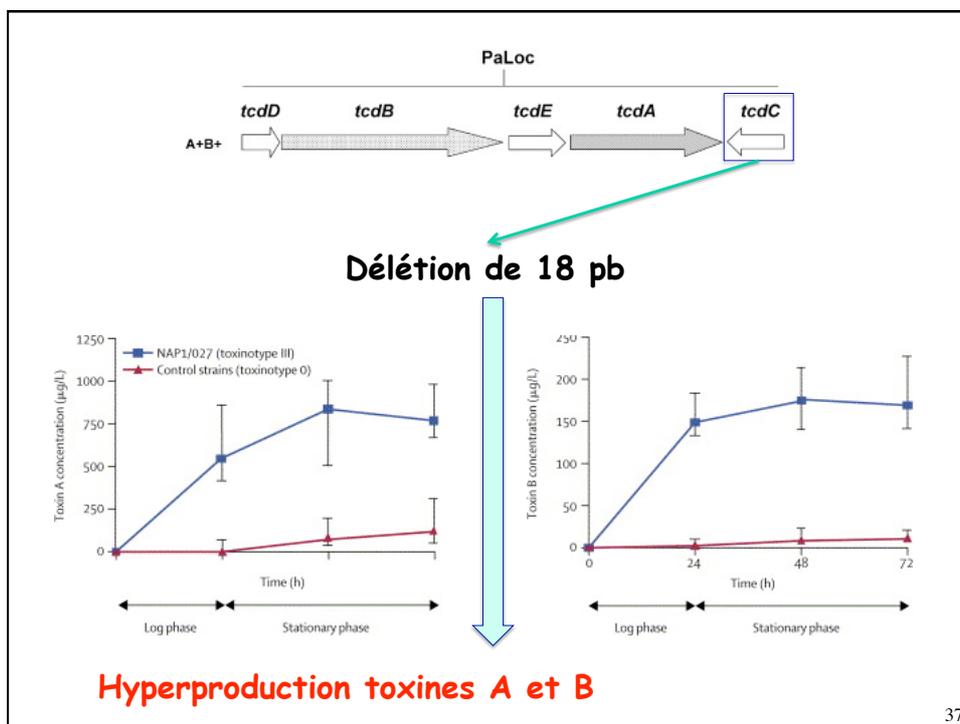


Productrice de la toxine binaire
Délétion de 18 pb dans *tcdC*

Hyperproductrice toxine A (x 16) et B (x 23)

Résistante aux macrolides (Erythromycine) et
aux fluoroquinolones (Moxi-, gati-, levofloxacin)

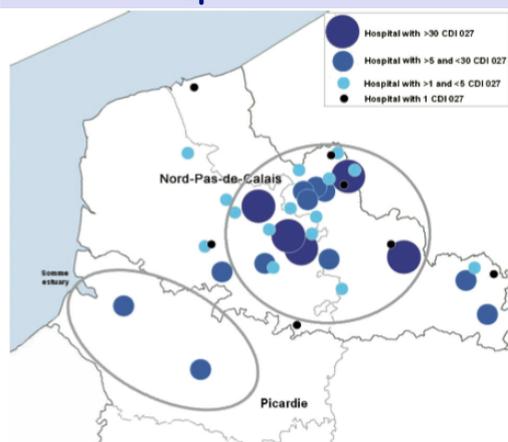
36



37

- 2005 : Europe (GB, Belgique, Pays-bas)
- France : Cas sporadiques puis ...

Epidémie 2006-2007 (22 mois)



**38 ES
22 mois
602 cas
31% décès**

Birgand G, Blanckaert K, Carbonne A, Coignard B, Barbut F, Eckert C, Grandbastien B, Kadi Z, Astagneau P. Investigation of a large outbreak of *Clostridium difficile* PCR-ribotype 027 infections in northern France, 2006-2007 and associated clusters in 2008-2009. Euro Surveill. 2010 Jun 24;15(25) pii: 19597

➔ **Création par l'InVS d'1 réseau de laboratoires experts *C. difficile***

- Identification du clone épidémique 027

- Veille épidémiologique :

émergence de nouveaux clones

ICD communautaires



Reconnaissance rapide de clones émergents
➔ **maîtrise accrue de leur diffusion**

Envoi et caractérisation de toute souche de *C. difficile* isolée en cas d'ICD sévères et/ou épidémique

2017 - 1 laboratoire *C. difficile*

- Infection communautaire à CD motivant l'hospitalisation
- Transfert en réanimation pour infection à CD
- Décès lié à l'infection à CD dans les 30 jours
- Hyperleucocytose >20 000/mm³
- Traitement chirurgical de l'infection à CD
- Epidémie ou cas groupés d'infections à CD

CHRI de Bactéries anaérobies et du listérielle	SUPPORT D'ENREGISTREMENT	VERSION
Laboratoire Clostridium difficile associé au CHRI	FICHE D'ACCOMPAGNEMENT DE SOUCHE DE CLOSTRIDIUM DIFFICILE	A
<p>Souche isolée de forme sévère et/ou épidémique à partir du 1^{er} Avril 2017 et quelle que soit votre région, les souches sont à adresser à :</p> <p>Dr Frédéric Barbut -33 1 49 25 30 11 ou barbut.fred@hopital-saint-antoine.fr Dr Jeanne Couffurier -33 1 40 01 14 63 (73 80) ou jeanne.couffurier@hopital-saint-antoine.fr Mme Cécile Gatteau -33 1 40 01 14 63 ou cecile.gatteau@hopital-saint-antoine.fr</p> <p>Laboratoire de Bactériologie Hôpital Saint-Antoine 184, rue du Faubourg Saint-Antoine 75012 Paris, France</p>		
<p>Patient : Nom (3 premières lettres) : Prénom (3 premières lettres) : Date de naissance : Sexe : Lieu d'hospitalisation (hôpital, clinique, centre de soins et service) : Signalement (CClin et l'ARS) :</p>	<p>Renseignements cliniques (à compléter obligatoirement) : Infection communautaire à CD motivant l'hospitalisation <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non Transfert en réanimation pour infection à CD <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non Décès lié à l'infection à CD dans les 30 jours <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non Hyperleucocytose >20 000/mm³ <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non Traitement chirurgical de l'infection à CD <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non Epidémie ou cas groupés d'infections à CD <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non</p>	
<p>Prélèvement : N° d'identification du prélèvement : Date du prélèvement : Type de prélèvement (selles, biopsies, autre prélèvement digestif) : Date d'ensemencement du milieu expédié * :</p>		
<p>* Milieu recommandé : Orlon ou sang sous sachet de type Anawogen Compact (Daid), Anawocult P (Mec) ou système stérile, pré-évalué pour vérifier que le milieu est en culture aérobie/anaérobie à 37°C pendant 72h.</p>		
<p>Nom et coordonnées du biologiste :</p>		<p>Cachet du laboratoire expéditeur</p>
<p>E-mail : Télé : Fax :</p>		
<p>NB : Le laboratoire associé n'effectue pas le diagnostic courant des diarrhées à Clostridium difficile - Pour plus de renseignements, voir le site du CHRI des Bactéries Anaérobies et Butyliennes : http://www.pasteur.fr/fr/centre-public/CHRI-des-bacteries-anaerobies-butyliennes - Se reporter à l'avis du comité technique des infections nosocomiales et des infections liées aux soins relatifs à la maîtrise de la diffusion des infections à Clostridium difficile dans les établissements de santé français : www.hopital-saint-antoine.org/ressources/CDdifficile.pdf</p>		
<p><small>La version générale à jour de ce document est en ligne sur le site des Bactéries Anaérobies et Butyliennes Ce document est à l'usage exclusif de l'Institut Pasteur - Reproduction à diffusion interdite</small></p>		

Depuis ...

France :

- Grande diversité de PCR-ribotypes sans clone dominant
- PCR-ribotype 027 : 2,8% des souches (Eckert *et al.* RICA1 2015)

Cassir N, et al. A regional outbreak of *Clostridium difficile* PCR-ribotype 027 infections in Southeastern France from a single long-term care facility.

Infect Control Hosp Epidemiol. 2016;37:1337-41

Janvier 2013 - Décembre 2015 / Provence-Alpes-Côte-d'Azur

19 ES

144 ICD

Mortalité 30 j. : 31%

41

Epidémies dues à de nouveaux PCR-ribotypes

Crobach *et al.* Clin Microbiol Infect. 2017

Dynamique / émergence de PCR-ribotypes connus

Emergence of *Clostridium difficile* Infection Due to a New Hypervirulent Strain, Polymerase Chain Reaction Ribotype 078

CID 2008:47

Abraham Goorhuis,¹ Dennis Bakker,¹ Jeroen Corver,¹ Sylvia B. Debast,¹ Celine Harmanus,¹ Daan W. Notermans,² Aldert A. Bergwerff,³ Frido W. Dekker,⁴ and Ed J. Kuijper¹

Departments of ¹Medical Microbiology and ²Clinical Epidemiology, Leiden University Medical Center, Leiden; ³Center for Infectious Disease Control, National Institute for Public Health and the Environment, Bilthoven; ⁴Department of Medical Microbiology, Meander Medical Center, Amersfoort; and ⁵Department of Veterinary Medicine, University of Utrecht, Utrecht, The Netherlands

- Etudes européennes : 2005 : 3% souches toxigéniques; 2008 : 8%
- Pays-Bas : 3% en 2005 → 13% fin 2007
- France
 - 3,25% (2006) → 11,1% (2007) → 15,1 % des souches toxigènes reçues CNR + réseau (juillet 2009-juin 2010)

42

Rupnik M *et al.* J Clin Microbiol. 2008;46:2146. Freeman J *et al.* Clin Microbiol Rev. 2010;23:529-4

Souches de PCR-ribotype 078

Caractéristiques

- responsable de formes sévères
 - chez population plus jeune
 - + souvent associé à des formes communautaires
- 
- présence des gènes codant pour la toxine binaire
 - délétion (39 pb) dans le gène régulateur *tcdC*
 - R ou S ➡ à la tétracycline
 - signalé dans nombreux pays dont plusieurs d'Europe

43

ICD d'origine communautaire

- Incidence en augmentation

France : 28% des ICD en court séjour (ICD-RAISIN 2009)

Europe : 16% CA-ICD ou origine inconnue (van Dorp *et al.* 2016)

USA : 35% (160 000 ICD communautaires/an) (Lessa *et al.*, NEJM 2015)

- Populations plus jeunes
- Avec mais aussi sans facteurs de risque d'acquisition de *C. difficile* :
 - pas d'antécédents d'hospitalisation
 - pas de prise d'antibiotique préalable
- Réservoir ? Facteurs de risque d'acquisition ?

44

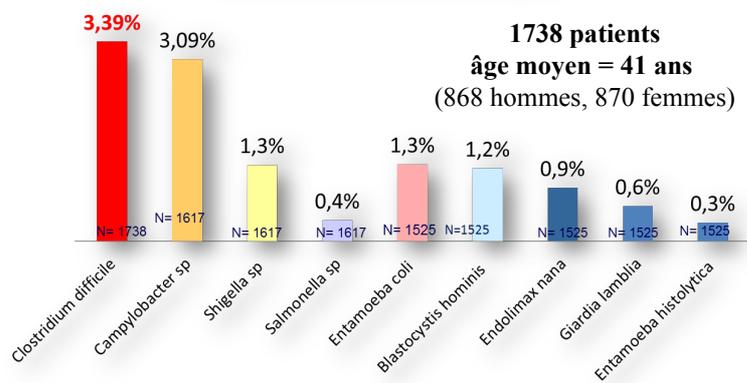
Etude COMMUNODIFF

- 3 mois
- 15 laboratoires
- Patients avec diarrhée de cause infectieuse probable
- Questionnaire clinique
- Recherche :
 - GDH + toxines A/B
 - résultats + → confirmation méthode de référence :
test de cytotoxicité des selles et culture toxigénique

45

COMMUNODIFF : résultats préliminaires

Prévalence pathogènes entériques



N. Day, ECCMID 2016

46

***C. difficile* parmi pathogènes les plus fréquents**

ICD :

- fréquentes dans la population générale
- sous-diagnostiquées par les MG :
60,6 % des ICD non détectées
- peuvent survenir chez des patients :
jeunes
sans antécédents d'antibiothérapie

47

Les animaux, l'environnement et l'alimentation : sources de *C. difficile* ?

- *C. difficile* ubiquitaire dans environnement
- Présent chez de nombreux animaux dont domestiques
Hôte : ex 078 prédominant chez bovins, porcins
- Agent pathogène de l'animal reconnu
- Souches humaines et animales génétiquement reliées
(notamment démontré pour 027 et 078)
- Alimentation : Données variables
Am du N : 4,6 à 50% de produits contaminés
Europe : 0-3%

Bauer MP, Kuijper EJ. Infect Dis Clin North Am. 2015

Rôle dans la transmission à l'homme ?

48

Conclusions

- **Diagnostic :**

- Meilleure sensibilisation
- Amélioration des techniques



Réduire l'écart
entre pratiques et
recommandations
pour le diagnostic
des ICD +++

- **Epidémiologie : Signalement, investigation, surveillance**

- Investigation systématique des cas de diarrhée nosocomiale ou communautaire sévère sans autre pathogène
- Signalement de toute forme sévère ou épidémique
- Expertise microbiologique souches isolées

49

