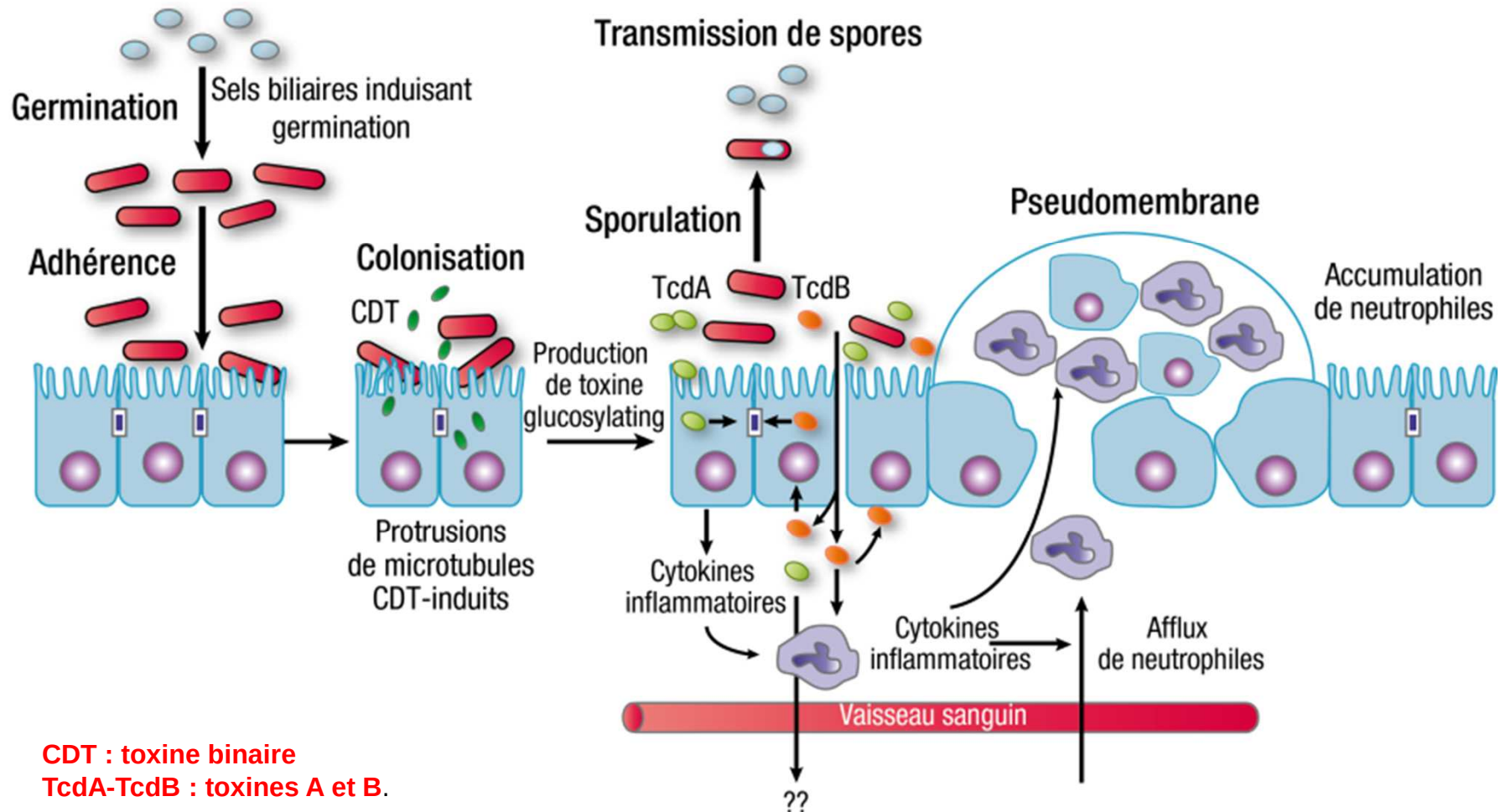


J'utilise la PCR pour le diagnostic d'infection à *Clostridium difficile* : POUR

Catherine Eckert

Les toxines sont responsables de l'infection

Ingestion de spores *C. Difficile*



Diagnostic des ICD

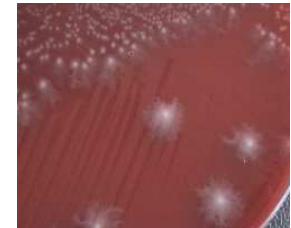
2 méthodes de référence

Test de cytotoxicité des selles
(CTA)



Cible différente

Culture toxigénique
(CT)



Toxine libre (toxine B et A)

Très spécifique

⇒ **signe la maladie**

moins sensible

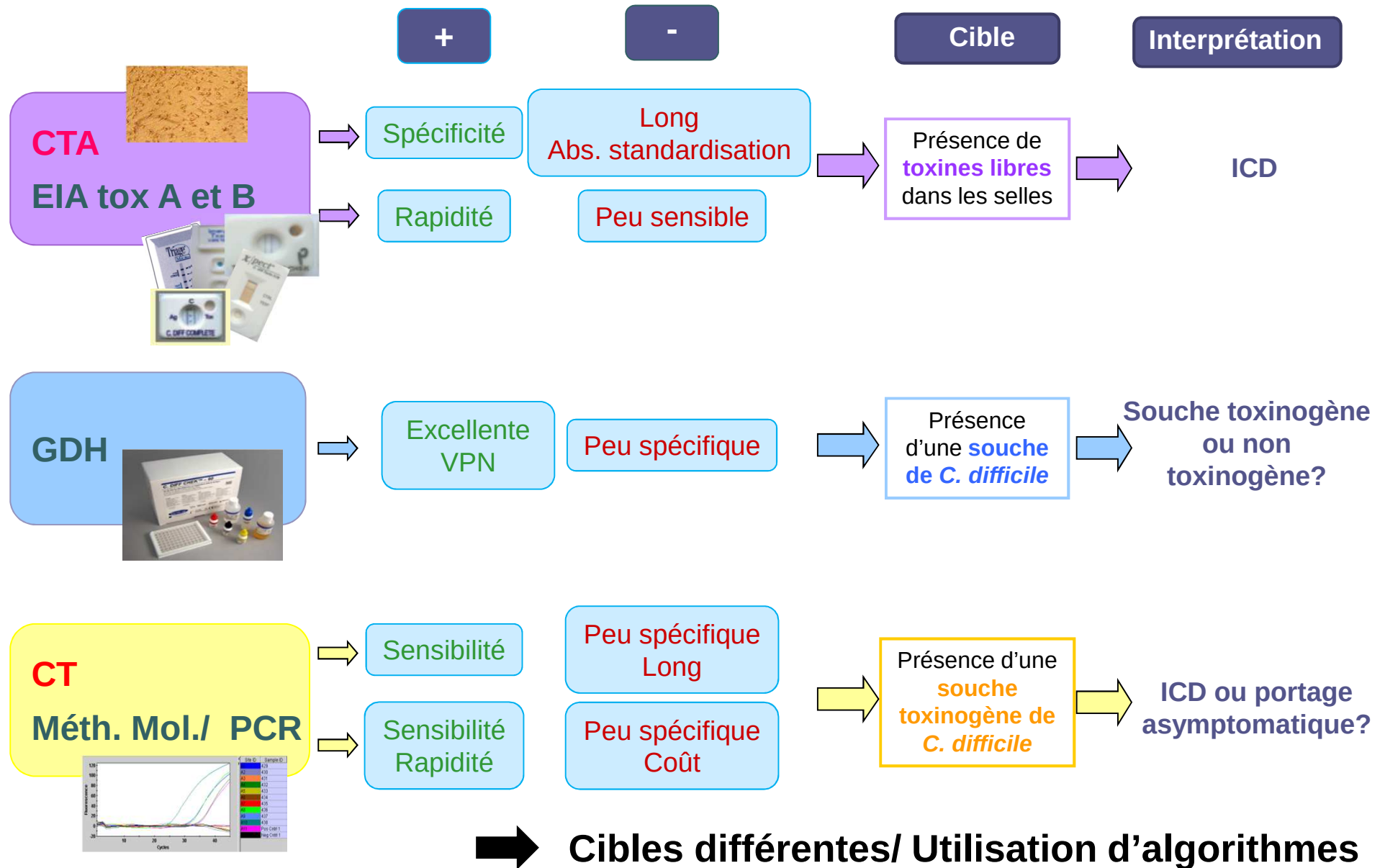
Souche toxinogène

Très sensible

moins spécifique

⇒ **Colonisation ou infection?**

Différentes méthodes, différentes cibles



Les méthodes moléculaires

Illumigene® C. difficile
Meridian Bioscience



Amplification isotherme
en boucle LAMP

tcdA

**AmpliVue
InGen®**



Amplification isotherme hélicase-
dépendante (Biohelix®)

Plusieurs cibles C. difficile

**IMDx C. difficile
for Abbott m2000**
(tcdA et tcdB)
IntelligentMDx



**Verigene® C. difficile
Test**
(tcdA, tcdB, PCR-ribotype 027)
Nanoshere



GenoType Cdiff
(tcdA, tcdB, plusieurs délétions
tcdC, dont la délétion en position
117, cdtA, cdtB, gyr)
Hain lifescience



Xpert® C. difficile
(tcdB, cdt, deletion en 117)
Cepheid



**RIDA®GENE
Clostridium difficile
& Toxin A/B**
(tcdA, tcdB, C. difficile)
R-Biopharm



Simplexa™ C. difficile
Universal Direct
FOCUS Diagnostics



tcdB

Cobas® Cdiff
Roche



Portrait Toxigenic C. difficile Assay
Portrait, Great Basin



Amplification isotherme
hélicase-dépendante

BD GeneOhm™ Cdiff Assay
BD



BD MAX™ Cdiff
BD



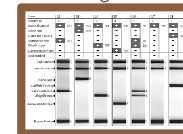
Prodesse ProGastro Cd assay
Gen-Probe



xTAG® Gastrointestinal Pathogen Panel
Luminex



Seeplex® Diarrhea ACE Detection
Seegene



Plusieurs pathogènes

FilmArray® Gastrointestinal Panel
Biomérieux



Les méthodes moléculaires : excellente VPN

Les méthodes moléculaires présentent une **excellente VPN**

Table 9

PPV and NPV for different categories of index tests at hypothetical CDI prevalences of 5, 10, 20 and 50%

Test type	CDI prevalence 5%		CDI prevalence 10%		CDI prevalence 20%		CDI prevalence 50%	
	PPV	NPV	PPV	NPV	PPV	NPV	PPV	NPV
Well-type EIA GDH	38	100	54	99	72	98	91	94
Membrane-type EIA GDH	34	100	52	100	71	99	91	98
Well-type EIA toxins A/B	69	99	83	98	91	96	98	87
Membrane-type EIA toxins A/B	81	99	90	98	95	95	99	83
NAAT	46	100	64	100	80	99	94	96

Pooled estimates of sensitivity and specificity compared to cell cytotoxicity neutralization assay were used to calculate the predictive values.

CDI, *Clostridium difficile* infection; EIA, enzyme immunoassay; GDH, glutamate dehydrogenase; NAAT, nucleic acid amplification test; NPV, negative predictive value; PPV, positive predictive value.

Les méthodes moléculaires : méthodes sensibles

La sensibilité des méthodes moléculaires est **comparable** à celle de la culture toxigénique

Type	Comparé au CTA			Comparé à la CT		
	Nombre études	Sensibilité (95% IC)	Spécificité (95% IC)	Nombre études	Sensibilité (95% IC)	Spécificité (95% IC)
total	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)

d'après Crobach et al. CMI 2016

Les méthodes moléculaires sont **plus sensibles** que les tests immuno-enzymatiques et le TCA

TABLE 2. Comparison of performance results for Xpert *C. difficile*, EIA, and two GDH algorithms compared to toxigenic culture with enrichment by site^a

Site no.	Site assay	n	Sensitivity (%)		Specificity (%)		PPV (%)		NPV (%)	
			Xpert	Site	Xpert	Site	Xpert	Site	Xpert	Site
1 ^{b,c}	Toxin A/B EIA	1,023	94.1	67.5	93.7	92.0	74.6	62.6	98.8	93.5
2 ^d	GDH-EIA	268	91.4	74.3	93.6	94.8	68.1	68.4	98.6	96.1
3 ^e	Toxin A/B EIA	293	92.3	53.8	94.5	97.6	72.0	77.8	98.8	93.2
4 ^f	Toxin A/B EIA	312	91.4	54.3	94.2	95.7	66.7	61.3	98.9	94.3
5 ^g	GDH-EIA-PCR	114	92.3	61.5	96.0	94.1	75.0	57.1	99.0	95.0
6 ^b	Toxin A/B EIA	173	97.0	33.3	93.6	93.6	78.0	55.0	99.2	85.6
7 ^h	Cytotoxin	110	90.9	54.5	94.9	98.0	66.7	75.0	98.9	95.1

Tenover et al JCM 2010

Les méthodes moléculaires : méthodes sensibles

- Etude prospective 2009-2010¹, 132 patients avec une ICD

1. Guerrero *et al* CID 2011
2. Dallal *et al* Annals of surgery 2001
3. Gerding *et al.* Arch Intern Med 1986
4. Johal *et al.* Gut 2004

→ test IEA négatif dans 32% (n=42) des cas

→ dont 9 ICD sévères

→ et 2 formes compliquées dont un patient **décédé d'une colite fulminante**

- Recherche des toxines libres (CTA) négative dans 12,5% des cas de colites fulminantes

- CPM chez 11% de pts sans toxine libre (CTA-)³

- CTA + chez seulement 48% des 56 patients ayant une CPM⁴



→ Un test négatif pour les toxines libres **ne permet pas d'écarter un diagnostic d'ICD**

→ Un test pour les toxines libres **peut être négatif même dans des formes fulminantes**

Les méthodes moléculaires : méthodes rapides

Etude prospective, Hôpital Saint Antoine, 750 lits, 3 périodes de 3 mois



Patients sans ICD	P1 (CTA+TC) (N=329)	P2 (Xpert) (N=336)	P3 (GDH + III) (N=340)	p
Tps restitution résultats : heures, moy $\pm$ ET	84.9 $\pm$ 22.9	15.6 $\pm$ 16.8 (4)	17.3$\pm$22.9 (6)	< 0.0001
Ttnt empirique VA ou MTZ, n (%)	44 (13.6%)	21 (6.4%)	19 (5.6%)	0.0002
Tps (j) pour arrêt ttnt injustifié mean $\pm$ SD	5.5 $\pm$ 3.3	3.6 $\pm$ 4.2 (2)	3.8 $\pm$ 4.6 (2)	0.09
Nb j ttnt injustifié	243	75	73	
Précautions contact n (%)	18 (5.6%)	10 (3.1%)	15 (4.4%)	0.28
Durée précautions contact (j) moy $\pm$ ET	4.5 $\pm$ 1.8	4.7 $\pm$ 6.8 (1.5)	3.7 + 3.6 (2)	0.08
Nb j précautions contact injustifiées	82	47	55	

Patients avec ICD	P1 (CTA+TC) (n=36)	P2 (Xpert) (n=45)	P3 (GDH + III) (n=45)	p
Tps restitution résultatsHeures, moy $\pm$ ET	75.7 + 61.9	15.4 + 15.4	31.4 + 38.7	<0.0001
Ttnt spécifique VA ou MTZ, n (%)	29 (80.6%)	42 (93.3%)	38 (84.4%)	0.21
Tps (j) entre Dg et ttnt spécifique moy$\pm$ ET	2.00 + 1.68	0.49 + 0.56	1.03 + 1.80	0.0003
Précautions contact, n (%)	29 (80.6%)	42 (93.3%)	34 (77.3%)	0.09
Durée d'hopi (j) Moy $\pm$ ET	30.3 $\pm$ 36.3	23.2 $\pm$ 25.4	26.9 $\pm$ 28.9	0.56

→ Impact sur la prise en charge du patient
→ Changement des pratiques Atb

Les méthodes moléculaires : méthodes rapides et sensibles

Etude rétrospective pts symptomatiques

Table 1

Characteristics of patients tested for toxigenic *C difficile* by toxin A/B EIA or PCR

	Toxin A/B EIA (Group 1)	<i>C difficile</i> PCR (Group 2)	P value
Hospital population			
Patients admitted	5,603	5,925	
Total length of stay (patient-days)	24,940	22,809	
Laboratory testing for toxigenic <i>C difficile</i>			
Symptomatic patients tested	286	250	
Total <i>C difficile</i> tests ordered	483	296	.002
Patients with >1 <i>C difficile</i> test	118	38	<.0001
Mean tests ordered per patient	1.7	1.2	
Patients positive for <i>C difficile</i>	28	29	.64
Prevalence of CDI			
Overall incidence density (per 10,000 pt days)	11.2	12.7	.36
HO-HCFA CDI (per 10,000 pt days)*	4.4	0.9	.02
Infection control practices			
Total patient isolation-days	1,022	364	<.00001
Mean patient isolation-days	3.6	1.5	.11
Antibiotic use			
Metronidazole	138	127	.43
Metronidazole with/negative <i>C difficile</i> test	38	16	.02
Oral vancomycin [†]	3	1	

→ Diminution de la durée du traitement empirique

Les méthodes moléculaires : méthodes rapides et sensibles

- **Diminution des ICD nosocomiales?**
 - Catanzaro *et al.* (AJIC 2011) diminution des ICD nosocomiales durant la période PCR vs période EIA 0,9 vs 4,4/10 000 pts-j $p=0,02$

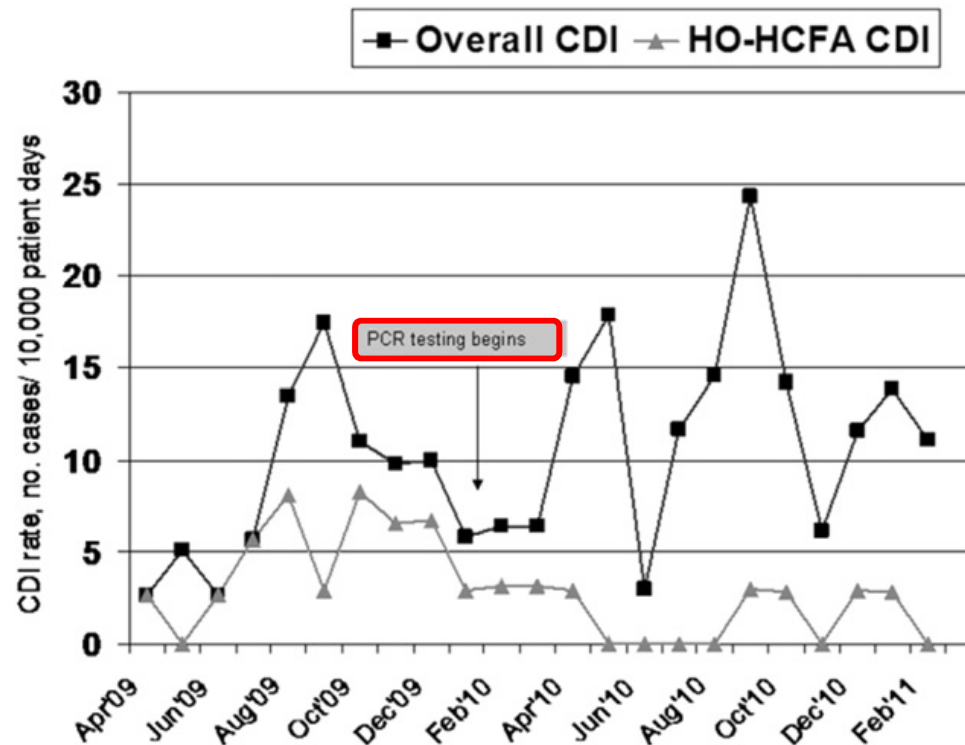


Fig 1. Distribution of health care-onset, health care facility-associated *C. difficile* infection rates.

Intérêt dans la détection des porteurs asymptomatiques ?

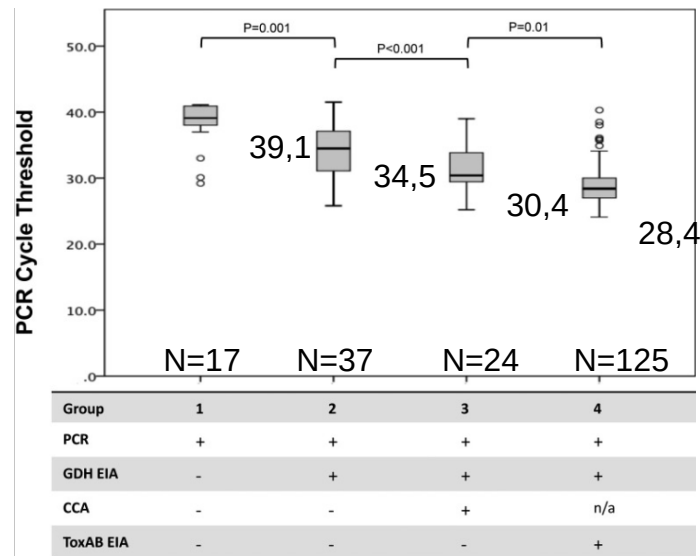
- Effet de la détection (par PCR) et de l'isolement des patients porteurs de CD à l'admission sur l'incidence des ICD
- Etude quasi expérimentale (nov 2013- mars 2015) Canada
- Analyse par régression segmentée avec comparaison à des établissements de la même région

Variable	Période épidémique (2004-2007)	Période Post épidémique (2007-2013)	Intervention (2013-2015)	p
Durée (mois)	35	76	15	
Nb de patients dépistés	NA	NA	7599	
Nb de patients porteurs à l'admission	NA	NA	368 (4,8%)	
Incidence HA CDI (/10000 JH)	11,1 (9,9-12,4)	6,9 (6,3-7,6)	3 (2,1-4)	<0,001
Incidence des CA CDI (/10000 JH)	0,75 (0,52-1,3)	0,59 (0,44-0,77)	0,49 (0,22-0,86)	0,6

Corrélation charge bactérienne, résultats des tests, sévérité

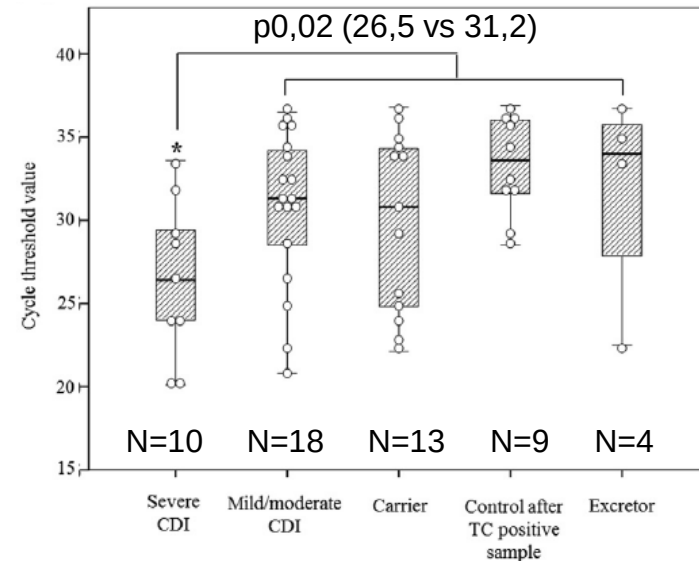
Etude Canada, 203 selles CT+ ¹

- Relation **Ct et résultats tests**
- Corrélation **Ct et charge bactérienne**



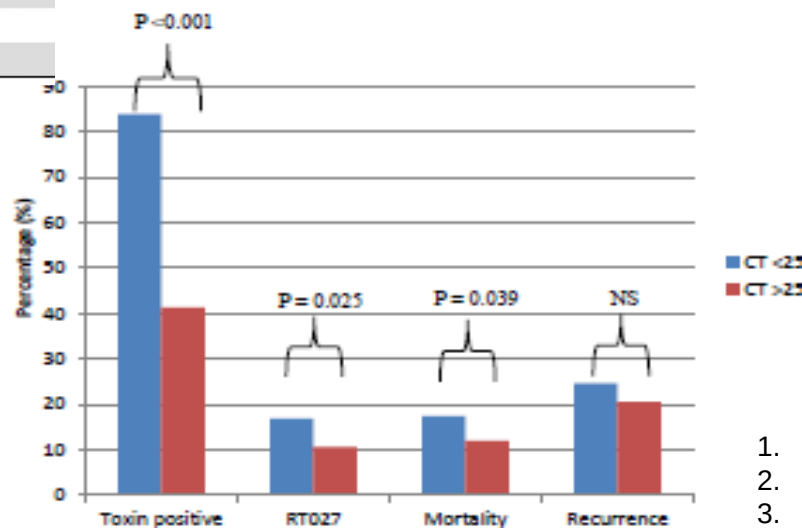
Nombre de cycles faible (Ct<25) associé ³

- à la présence de toxines libres
- la mortalité
- la présence d'une souche 027



Etude Allemagne²

- **Corrélation significative Ct et sévérité de l'ICD**



1. Dionne *et al* JCM 2013
2. Jazmati *et al* CMI 2016
3. Davies *et al*, Idweek 2015, P951

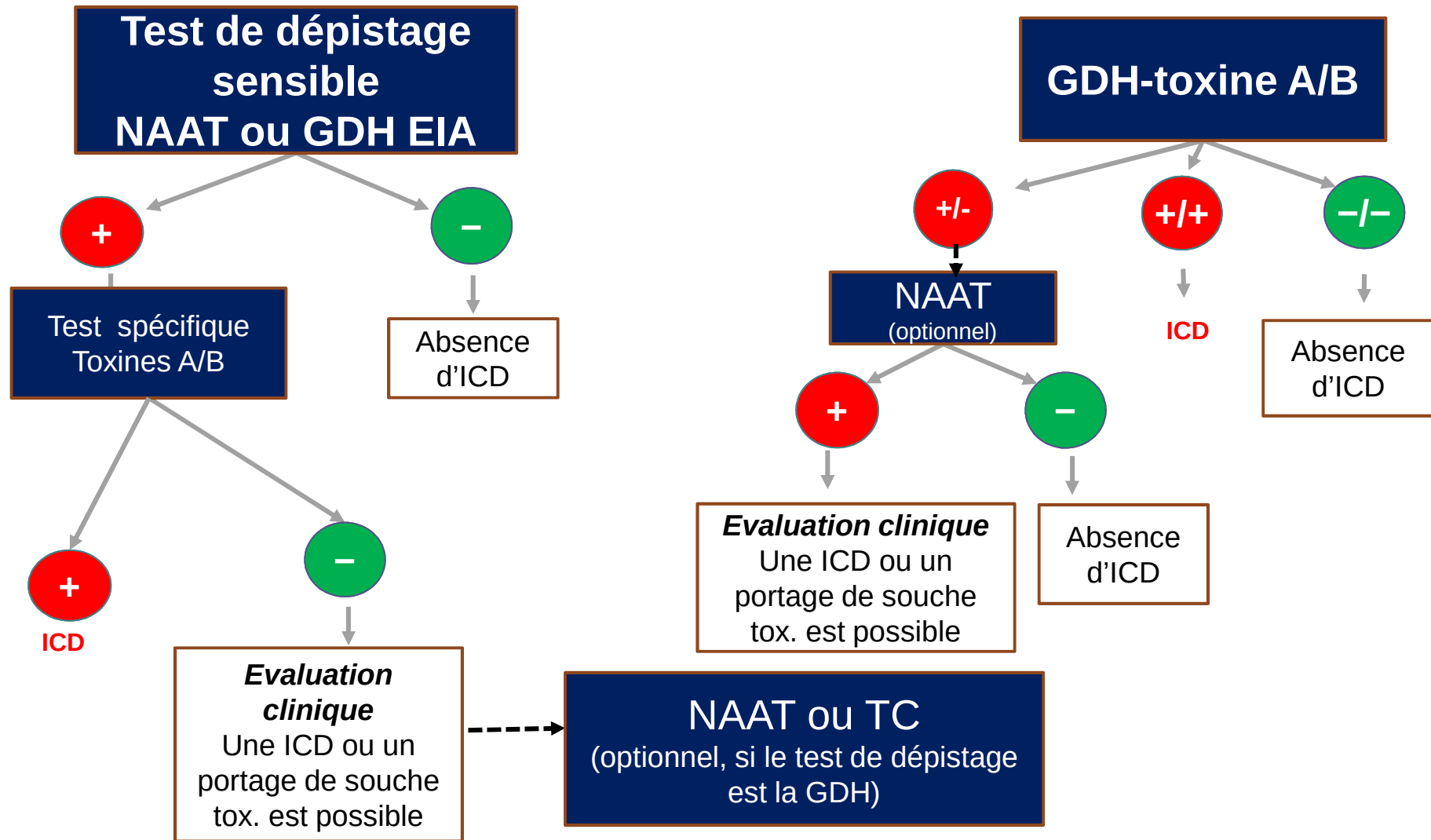
Méthodes moléculaires : intérêt des PCR multiplex

Panels gastro-intestinaux : **plusieurs cibles en un minimum de temps**

TABLE 5 Performance summary and characteristics of the FilmArray GI Panel versus those of comparator assays (stool culture or PCR and sequencing)

Analyte	No. of detections ^a		Sensitivity/PPA ^b			Specificity/NPA ^b		
	C	FA	TP/(TP+FN)	%	95% CI (%)	TN/(TN+FP)	%	95% CI (%)
<i>Campylobacter</i> spp.	35	58	34/35	97.1	85.1–99.9	1,497/1,521	98.4	97.7–99.0
<i>C. difficile</i>	165	204	163/165	98.8	95.7–99.9	1,350/1,391	97.1	96.0–97.9
<i>P. shigelloides</i>	3	18	3/3	100	29.2–100	1,538/1,553	99.0	98.4–99.5
<i>Salmonella</i> spp.	31	37	31/31	100	88.8–100	1,519/1,525	99.6	99.1–99.9
<i>Vibrio</i> spp.	0	2	0/0			1,554/1,556	99.9	99.5–100
<i>V. cholerae</i>	0	1	0/0			1,555/1,556	99.9	99.6–100
<i>Y. enterocolitica</i>	1	1	1/1	100	NA ^c	1,555/1,555	100	99.8–100
EAEC	83	109	82/83	98.8	93.5–100	1,446/1,473	98.2	97.3–98.8
EPEC	317	348	314/317	99.1	97.3–99.8	1,167/1,201	97.2	96.1–98.0
ETEC	22	31	22/22	100	84.6–100	1,525/1,534	99.4	98.9–99.7
STEC	33	38	33/33	100	89.4–100	1,518/1,523	99.7	99.2–99.9
<i>E. coli</i> O157	3	4	3/3	100	29.2–100	34/35	97.1	85.1–99.9
<i>Shigella</i> spp./EIEC (culture) ^d	49 (31)	49	47/49	95.9	86.0–99.5	1,505/1,507	99.9	99.5–100
<i>Cryptosporidium</i> spp.	18	24	18/18	100	81.5–100	1,532/1,538	99.6	99.2–99.9
<i>C. cayetanensis</i>	19	19	19/19	100	82.4–100	1,537/1,537	100	99.8–100
<i>E. histolytica</i>	0	0	0/0			1,556/1,556	100	99.8–100
<i>G. lamblia</i>	20	27	20/20	100	83.2–100	1,529/1,536	99.5	99.1–99.8
Adenovirus F 40/41	44	55	42/44	95.5	84.5–99.4	1,499/1,512	99.1	98.5–99.5
Astrovirus	7	8	7/7	100	59.0–100	1,548/1,549	99.9	99.6–100
Norovirus GI/GII	55	70	52/55	94.5	84.9–98.9	1,483/1,501	98.8	98.1–99.3
Rotavirus A	6	18	6/6	100	54.1–100	1,538/1,550	99.2	98.7–99.6
Sapovirus	46	59	46/46	100	92.3–100	1,497/1,510	99.1	98.5–99.5

Recommandations de l'ESCMID 2016



Conclusion

- Les méthodes moléculaires

sensibles et rapides
excellente VPN

→ amélioration de la prise en charge des patients

- Risque de sous-diagnostic si recherche des toxines libres uniquement
- Importance de la sélection des selles pour éviter un sur-diagnostic

Infection Control Measures

Isolation Precautions

	CDI	CD-AC
• Respect of isolation precautions for all healthcare workers and visitors	x	x
• Use of procedure (non-sterile) gloves when caring for patient or before touching surfaces in the vicinity of the patient	x	x
• Use of gown when caring for patient or before touching surfaces in the vicinity of the patient	x	
• Hand washing with soap and water after contact with patient or his/her environment	x	x
• Dedicated medical equipment (thermometer, sphygmomanometer, etc.)	x	x
• Dedicated toilet or commode	x	x

Patient placement

• Private room	x	
• Flagged isolation in multi-patient room allowed (privacy curtain drawn and visible sign present at entrance of patient zone)		x
• Cohorting of patients with similar condition allowed	x	x

Transportation

• Respect of precautions during transportation	x	
--	---	--

Environmental control

• Daily environmental disinfection with chlorine-based product	x	x
• Disinfection of equipment leaving patient zone with a chlorine-based product	x	x

Duration of precautions

• Until discharge	x	x
-------------------	---	---

Readmission

• No pre-emptive isolation on readmission	x	x
---	---	---