

Diagnostic et prise en charge des diarrhées à *Clostridioides difficile*

Jeanne Couturier^{1,2}, Sara Romano-Bertrand^{3,4}, Bruno Pozzetto^{5,6}, Frédéric Barbut^{1,2}, Jean-Winoc Decusser^{7,8}

1- Centre national de référence *Clostridium difficile* – Hôpital Saint-Antoine – Assistance publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP) – Paris – France

2- Unité mixte de recherche (UMR) S-1139 Physiopathologie et pharmacotoxicologie placentaire humaine : microbiote pré et post natal – Institut national de la santé et de la recherche médicale – Faculté de pharmacie de Paris – Université Paris-Cité – Paris – France

3- Service d'hygiène hospitalière – Centre hospitalier universitaire (CHU) de Montpellier – Montpellier – France

4- Équipe Pathogènes hydriques, santé, environnements – UMR 5151 HydroSciences Montpellier – Unité de bactériologie – Unité de formation et de recherche des sciences pharmaceutiques et biologiques – Université de Montpellier – Montpellier – France

5- Service des agents infectieux et d'hygiène – CHU de Saint-Étienne – Saint-Priest-en-Jarez – France

6- Groupe sur l'immunité des muqueuses et agents pathogènes (Gimap) – Centre international de recherche en infectiologie (Ciri) – Université Claude-Bernard-Lyon-1 – Institut national de la santé et de la recherche médicale (Inserm) U1111 – UMR 5308 – Centre national de la recherche scientifique (CNRS) – École normale supérieure de Lyon –

Faculté de médecine – Université Jean-Monnet-Saint-Étienne – Saint-Étienne – France

7- Équipe opérationnelle d'hygiène (EOH) – Hôpitaux universitaires Henri-Mondor (HUHM) – AP-HP – Créteil – France

8- Équipe d'accueil 7380 Dynamyc – Université Paris-Est Créteil – Faculté de médecine de Créteil – École nationale vétérinaire d'Alfort – Créteil – France

✉ Pr Jean-Winoc Decusser – EOH – HUHM – AP-HP – 1, rue Gustave-Eiffel – 94000 Créteil – France
E-mail : jean-winoc.decusser@aphp.fr

Résumé

Les diarrhées à *Clostridioides difficile* (anciennement *Clostridium difficile*) sont des infections à la fois communautaires et associées aux soins. Elles se développent chez des patients ayant un microbiote digestif altéré, principalement par la prise d'antibiotiques. Dans ce contexte, seules les souches toxigènes sont pathogènes. Contrairement à de nombreuses bactéries, le diagnostic des diarrhées à *C. difficile* n'est pas basé en première intention sur la culture. Plusieurs types de tests sont disponibles et organisés selon des algorithmes bien définis. En termes de prévention de la transmission, la prise en charge des patients diarrhéiques (c'est-à-dire présentant plus de 3 selles quotidiennes non moulées) et pour lesquels la recherche des toxines est positive par test antigénique ou par PCR ne pose pas de problème : les précautions complémentaires spécifiques *C. difficile* doivent être prescrites et mises en place. L'eau de Javel et les dérivés peroxygénés sporicides sont des désinfectants de surface de choix. Le traitement antibiotique n'est pas basé sur la réalisation d'un antibiogramme. Le suivi de la guérison est clinique : il ne faut pas réaliser de test microbiologique de contrôle. Chez les patients asymptomatiques, le portage de souche toxigène est possible ; la prévalence varie de 3,9 à 5,8%. Leur dépistage n'est néanmoins pas recommandé. La prise en charge de ces porteurs asymptomatiques n'est pas standardisée. Il semble prudent de les maintenir en chambre individuelle s'ils doivent bénéficier d'une antibiothérapie puisque la probabilité pour ces patients de développer une infection est particulièrement élevée.

Mots-clés : *Clostridioides difficile* – Risque infectieux – Diagnostic – Prévention des infections – Diarrhée – Nosocomial – Infection associée aux soins.

Abstract

Diagnosis and management of *Clostridioides difficile* diarrhoea

Clostridioides difficile (formerly *Clostridium difficile*) diarrhoea are community and healthcare-associated infections. They develop in patients suffering from an altered intestinal microbiota, mainly through antibiotics consumption. In this context, only toxigenic strains are pathogenic. Unlike many bacteria, the diagnosis of *C. difficile* diarrhoea is not primarily based on culture. Several types of tests are available and organized according to well-defined algorithms. In terms of transmission prevention, the management of diarrheal patients (i.e. those with more than 3 unformed daily stools) and for whom the toxins testing is positive by antigen test or by PCR is clear: specific additional *C. difficile* precautions must be prescribed and implemented. Bleach and sporicidal peroxygens are the most effective surface disinfectants. Antibiotic treatment is not based on antimicrobial susceptibility testing. Monitoring of patients is based on their clinical evolution: no control microbiological test should be carried out. In asymptomatic patients, carriage of a toxigenic strain is possible; the prevalence ranges from 3.9 to 5.8%. However, systematic screening is not recommended. The management of these asymptomatic carriers is not standardized. It seems prudent to keep them in a single room if they must benefit from antimicrobial therapy; the probability of these patients developing a *C. difficile* infection is particularly high.

Keywords: *Clostridioides difficile* – Infection risk – Diagnosis – Infection prevention – Diarrhea – Nosocomial – Healthcare-associated infections.

Introduction

Pour ce nouveau volet de la rubrique *Du côté du labo*, nous allons faire le point sur le diagnostic et la prise en charge en termes de prévention de la transmission par les patients atteints de diarrhées à *Clostridioides difficile*. En effet, bien que cette pathologie soit connue depuis de nombreuses années, des changements sont survenus dans de nombreux domaines de la maladie qui peuvent influencer au quotidien l'action des hygiénistes. Cette brève revue propose une actualisation d'un sujet très important pour la prise en charge des patients hospitalisés.

Évolution taxonomique

Au regard de nouvelles analyses phylogénétiques et phénotypiques, l'espèce *Clostridium difficile* a été reclassée en 2016 en *Clostridioides difficile* [1].

Épidémiologie des infections à *C. difficile*

C. difficile est responsable de 10% à 25% des diarrhées qui surviennent au cours ou au décours d'une antibiothérapie et de pratiquement tous les cas de colites pseudomembraneuses (CPM) qui sont diagnostiquées lors de l'examen endoscopique. L'incidence des infections à *C. difficile* (ICD) est en augmentation depuis le début des années 2000. En France, l'incidence des séjours hospitaliers mentionnant un diagnostic d'ICD est passée de 1,5 séjour pour 10 000 journées d'hospitalisation en 2010 à 3,4 en 2016, soit 14% d'augmentation par an [2]. Les infections digestives étaient classées à la sixième place des infections nosocomiales lors de l'enquête nationale de prévalence réalisée en 2022 avec une prévalence de 0,32% (pour une prévalence globale des infections nosocomiales de 6,06%) [3]. Lors de cette enquête, *C. difficile* se hissait au dixième rang des micro-organismes responsables d'une infection associée aux soins avec une part relative de 2,32%. Le rôle pathogène de *C. difficile* chez l'enfant est discuté. Le pourcentage d'enfants porteurs asymptomatiques de souches toxigènes ou non est très élevé avant trois ans et peut atteindre 70% [4].

L'origine communautaire ou associée aux soins n'est pas simple à déterminer et fait encore l'objet de discussions [5]. Le caractère nosocomial des ICD est retenu si les symptômes apparaissent au moins 48 heures après l'admission, au cours de l'hospitalisation et dans les quatre semaines qui suivent la sortie de l'hôpital. Les infections sont considérées comme communautaires si elles surviennent à une distance minimale de douze semaines après toute hospitalisation. En dehors de ces périodes, l'origine nosocomiale ou communautaire est discutée. La place de *C. difficile* au sein des micro-organismes responsables de diarrhées en dehors de l'hôpital est probablement sous-évaluée.

Dans une étude multicentrique réalisée pendant onze

mois en 2019 auprès de quinze laboratoires d'analyse médicale privés, la recherche de la toxine de *C. difficile* avait été systématiquement réalisée lorsqu'une coproculture était prescrite [6]. Cette recherche s'est avérée positive chez 1,81% des patients de plus de trois ans. *C. difficile* était dans cette étude le second entéropathogène identifié après *Campylobacter sp.* Sa recherche n'était pourtant spontanément demandée par les prescripteurs que dans 13% des cas (52,3% des recherches positives) [6].

Les recommandations de la Société européenne de microbiologie clinique et de maladies infectieuses (ESCMID) de 2016 stipulent qu'il faudrait rechercher *C. difficile* devant tout cas de selle diarrhéique chez l'adulte [7]. La Haute Autorité de santé souligne que sa recherche doit être réalisée dans les situations suivantes : diarrhée communautaire persistante et sans amélioration au-delà de trois jours malgré le traitement symptomatique, ou associée d'emblée à des signes de gravité, avec ou sans antibiothérapie [8].

Pouvoir pathogène de *C. difficile*

Le pouvoir pathogène de *C. difficile* est lié à la présence de toxines : la toxine A, ou entérotoxine, et la toxine B, ou cytotoxine. Les toxines A et B sont codées par les gènes *tcdA* et *tcdB*¹. Elles sont capables de détruire les entérocytes et de provoquer une réaction inflammatoire au niveau de la muqueuse. Une autre toxine, la toxine binaire, a été décrite. Son rôle pathogène spécifique est discuté, comme sa participation à l'exacerbation de la pathogénicité de certains clones particulièrement virulents (cf. ci-dessous). Une souche de *C. difficile* dite non toxigène (absence des toxines A et B) n'est pas considérée comme pathogène si elle est retrouvée dans les selles.

La résistance naturelle de *C. difficile* à de nombreux antibiotiques (dont les céphalosporines) favorise sa prolifération intestinale lors d'une antibiothérapie ayant notamment une action sur le microbiote dominant anaérobie.

Le rôle pathogène de *C. difficile* et sa transmissibilité, sont liés à la formation de spores qui sont capables de persister pendant des mois sur des supports inertes. Ces structures quiescentes (insensibles aux traitements antibiotiques car ne se multipliant pas) résistent particulièrement bien aux écarts de température, à l'absence de nutriment, à la dessiccation, aux désinfectants couramment utilisés, aux antiseptiques comme l'alcool, ou aux produits hydro-alcooliques utilisés pour l'hygiène des mains. Seules la détertion ou l'utilisation de produits spécifiés comme sporicides permettent de les détruire.

À la fin des années 1990 a été rapportée dans différents pays une augmentation des cas d'infections à *C. difficile* et de leur gravité [4]. L'étude moléculaire des

1- Tcd : *C. difficile* toxin.

souches a permis d'identifier un clone (ribotype) particulier caractérisé par sa résistance de haut niveau aux fluoroquinolones, la présence d'une troisième toxine (la toxine binaire) et une production augmentée des toxines A et B. Ces caractéristiques permettaient d'expliquer à la fois la gravité des cas et la très forte excrétion de spores dans l'environnement à l'origine de nombreuses transmissions secondaires. La diffusion rapide de ce clone (dénommé NAP-1² ou ribotype O27) s'est arrêtée dans les décennies suivantes sans explication ; des souches appartenant à ce clone sont néanmoins toujours identifiées sporadiquement en France. Les infections à *C. difficile* sont également caractérisées par un taux de récurrence élevé, notamment lorsque les causes initiales de l'infection (utilisation d'antibiotiques, altération du microbiote intestinal...) ne sont pas corrigées.

Diagnostic au laboratoire des diarrhées à *C. difficile*

Les techniques diagnostiques et notamment les algorithmes qui précisent les différentes étapes du diagnostic biologique des diarrhées à *C. difficile* ont régulièrement évolué au cours des vingt dernières années. La démocratisation des techniques de PCR³ et la désormais large utilisation des tests génomiques dits syndromiques combinant la recherche simultanée des acides nucléiques de différents agents pathogènes (bactéries, virus, toxines et parasites) ont bouleversé l'approche diagnostique.

Indication de la recherche de *C. difficile* dans les selles

C. difficile reste en 2024 la principale bactérie responsable de diarrhée nosocomiale. Il est donc justifié de rechercher cette étiologie dans un contexte d'hospitalisation. Néanmoins il est plus que jamais nécessaire de rappeler au prescripteur la définition de la diarrhée aiguë : présence quotidienne d'au moins trois selles non moulées depuis moins de quinze jours. Les diarrhées chroniques qui datent de plus de quinze jours ont d'autres étiologies. La présence d'un seul épisode diarrhéique ne doit pas déclencher un prélèvement microbiologique à visée diagnostique : s'il met en évidence *C. difficile* ou sa toxine, il n'est pas certain que cette présence soit responsable des symptômes ; le patient est le plus souvent un simple porteur et ces diagnostics excessifs sont à l'origine de traitements antibiotiques non justifiés. De nombreuses études ont montré l'intérêt de la juste prescription de la recherche de *C. difficile* [9]. Si la diarrhée aiguë est avérée, la responsabilité de *C. difficile* doit être recherchée, notamment en cas d'antibiothérapie ou d'hospitalisation récente.

2- North American pulsotype 1.

3- Polymerase chain reaction, réaction en chaîne par polymérase.

Types de prélèvement

Le principal prélèvement biologique testé est constitué par des selles non moulées (c'est-à-dire prenant la forme du récipient). En milieu hospitalier, elles ne sont quasiment plus envoyées directement au laboratoire mais sont échantillonnées par l'infirmière à l'aide d'un écouvillon déchargé immédiatement dans un milieu de transport. Cette organisation empêche le contrôle de l'aspect des selles au laboratoire. Ce milieu de transport doit être conservé à température ambiante le temps d'être acheminé au laboratoire (le délai d'envoi est généralement de 24 heures et peut aller jusqu'à trois jours). De façon anecdotique, *C. difficile* peut également être recherché à partir de biopsies digestives conservées dans quelques gouttes de sérum physiologique stérile.

Techniques microbiologiques

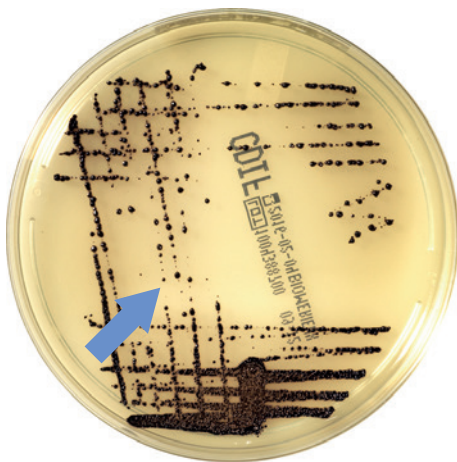
L'intitulé de la demande stipule la recherche de *C. difficile* et de ses toxines dans les selles. Il est très important de noter que la recherche de *C. difficile* n'est pas incluse dans la coproculture standard qui comprend la recherche de *Salmonella*, *Shigella* et *Campylobacter*. Cette nomenclature étant souvent à l'origine de prescriptions erronées, de nombreux laboratoires hospitaliers transforment automatiquement les demandes de coproculture standard en demandes de recherche de *C. difficile* si le patient est hospitalisé depuis 48 ou 72 heures. En effet, si le patient est admis pour un autre motif qu'une infection digestive, il est peu probable qu'il développe au cours de son hospitalisation une diarrhée infectieuse liée aux pathogènes communautaires recherchés dans le cadre de la coproculture standard. À l'inverse, *C. difficile* étant la principale bactérie responsable de diarrhée nosocomiale, elle doit être recherchée par principe dans ce contexte d'apparition de symptômes digestifs au cours d'une hospitalisation. Cette approche doit néanmoins tenir compte du risque d'acquisition de bactéries communautaires en cas de permission accordée aux patients, d'apport d'aliments par la famille ou, phénomène plus récent, de livraison d'aliments à l'intérieur de l'hôpital. En raison de leur mauvaise valeur prédictive dans un contexte de faible incidence d'ICD, les tests commerciaux actuellement disponibles ne peuvent pas être utilisés seuls. C'est pourquoi l'ESCMID recommande au niveau européen un algorithme diagnostique en deux étapes afin d'optimiser le diagnostic des ICD [7].

Place de la culture : l'exception *C. difficile*

Contrairement à l'usage pour la majorité des bactéries recherchées au laboratoire, la culture bactérienne n'est pas la technique de référence pour *C. difficile*. Il y a plusieurs raisons à cela : tout d'abord, comme vu précédemment, seules les souches de *C. difficile* productrices de toxines sont pathogènes

et doivent être recherchées. De plus, *C. difficile* est une bactérie anaérobie du tube digestif dont la culture nécessite des conditions particulières pour éliminer l'oxygène mais aussi éviter la prolifération des autres bactéries du tube digestif, qui se reproduisent plus vite et plus facilement et pourraient masquer la présence de *C. difficile*. Il faut donc utiliser des milieux sélectifs contenant des antibiotiques inhibant les autres micro-organismes, incubés au minimum 48 heures en anaérobiose. Des milieux chromogéniques ont été développés pour faciliter l'identification des colonies suspectes qui présentent une couleur particulière (Figure 1). De plus, si *C. difficile* est présent sous la forme de spores, il faut que celles-ci germent pour pouvoir donner des colonies identifiables : certains milieux favorisent cette germination en intégrant des additifs comme les sels biliaires. La culture des selles à la recherche de *C. difficile* n'est donc pas mise en œuvre en première intention mais uniquement lorsque les autres tests développés ci-dessous sont positifs. L'isolement de la souche permet, le cas échéant, de la comparer à d'autres souches pour rechercher des phénomènes de transmissions croisées et donc des épidémies. Cette culture n'est néanmoins pas systématiquement réalisée par les laboratoires. L'exception à cette règle est la recherche de *C. difficile* à partir de biopsies digestives qui doivent être mises en culture ; en cas de culture positive, les souches de *C. difficile* sont ensuite testées pour rechercher la présence de toxines.

Figure 1 – Culture de *C. difficile* sur milieu sélectif chromogénique.



© DR

Après 48 heures de culture en anaérobiose, les colonies de *C. difficile* apparaissent de couleur noire. Il est possible de confirmer leur identification par les techniques phénotypiques habituelles comme la spectrométrie MALDI-TOF.

MALDI-TOF : *matrix-assisted laser desorption/ionization - time-of-flight*, spectromètre de masse couplant une source d'ionisation laser assistée par une matrice et un analyseur à temps de vol.

Détection antigénique

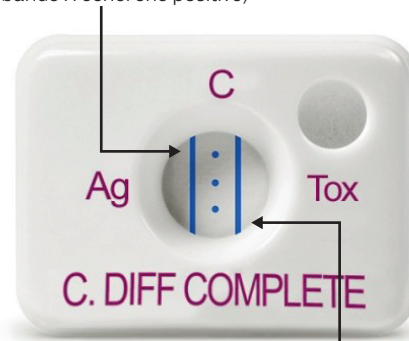
Comme nous l'avons souligné précédemment, la présence d'une souche toxigène, si elle n'est pas suffisante, est nécessaire au diagnostic de diarrhées à *C. difficile*. Les stratégies diagnostiques ont donc intégré un premier tri des échantillons de selles par la recherche d'un antigène spécifique de cette bactérie. Il s'agit d'une enzyme, la glutamate déshydrogénase (GDH), qui est recherchée par une méthode immuno-enzymatique ou immunochromatographique. Cette analyse est très sensible : en cas de négativité, la recherche de *C. difficile* peut être considérée comme négative. En cas de positivité, il est néanmoins indispensable de rechercher la présence des toxines afin de mettre en évidence les souches de *C. difficile* toxigènes, les seules dotées de pouvoir pathogène, et notamment responsables de diarrhées.

Détection des toxines dites « libres »

La présence de toxines libres dans les selles est recherchée dans le prélèvement par une méthode immuno-enzymatique ou immunochromatographique ; ce sont des méthodes phénotypiques qui mettent en évidence la toxine en tant que protéine. La présence de ces toxines dites « libres » atteste d'une infection digestive à *C. difficile*. La spécificité de ces tests est excellente, néanmoins leur sensibilité est imparfaite. L'association entre un test antigénique GDH positif et une recherche de toxine libre négative peut avoir deux explications : la présence d'une souche de *C. difficile* non toxigène donc non pathogène, ou la présence d'une souche produisant

Figure 2 – Test immunochromatographique combinant la recherche d'un antigène spécifique de *C. difficile* et celle de la présence de la toxine « libre ».

Recherche de l'antigène GDH de *C. difficile* (présence d'une bande : recherche positive)



© DR

Recherche des toxines libres de *C. difficile* (présence d'une bande : recherche positive)

GDH : glutamate déshydrogénase.

une toxine en quantité non suffisante pour être mise en évidence par les techniques phénotypiques. Des tests complémentaires sont donc nécessaires pour statuer.

Tests combinant recherche antigénique et recherche de la toxine libre

Certains tests appelés « combo » combinent sur le même support appelé cassette la recherche de la GDH et celle des toxines libres (Figure 2).

ENCADRÉ

Quelle évolution et quelle prise en charge des patients porteurs asymptomatiques ?

Le portage de *C. difficile* toxinogène est défini par la présence d'une souche toxinogène chez un patient ne présentant pas ou plus de symptôme. La notion de portage de souche de *C. difficile* toxinogène chez des patients asymptomatiques était surtout connue pour des enfants de moins d'un an. L'utilisation à large échelle de tests PCR très sensibles a néanmoins mis en évidence ce phénomène chez un nombre non négligeable de patients adultes. Deux études multicentriques françaises ont montré que la prévalence de *C. difficile* toxinogène variait de 3,9% à 5,8% ; parmi les patients porteurs, une minorité présentait une recherche de toxine libre positive, les autres présentaient un profil de type « présence de GDH¹ – absence de toxine libre – PCR² positive » [20,21].

La prévalence du portage variait selon le type de service et était plus élevée dans les services de long séjour que dans les services de chirurgie. Les facteurs de risque de portage étaient une antibiothérapie dans les trois mois précédents, une hospitalisation dans les deux mois précédents, une durée d'hospitalisation cumulée plus élevée avant le dépistage et une hospitalisation dans un service avec une incidence élevée d'infection à *C. difficile*. Dans une étude américaine réalisée dans une réanimation pendant neuf mois, 9,3% des patients admis étaient porteurs d'une souche toxinogène à l'admission [17]. Seuls 1% des patients non porteurs à l'admission ont acquis une souche au cours de leur hospitalisation ; en parallèle, les patients porteurs avaient 24 fois plus de risque de développer une infection au cours de leur hospitalisation que les non-porteurs.

Au quotidien, l'hygiéniste doit de plus en plus souvent faire face à la gestion de patients présentant des tests discordants (présence de l'antigène GDH, absence de toxine libre, gènes de toxines détectés par PCR) ou de patients naturellement guéris et ne présentant plus de symptôme au moment où les résultats des tests positifs sont transmis aux équipes opérationnelles d'hygiène. Du point de vue de l'hygiéniste, il nous semble logique de :

- mettre en place des précautions complémentaires adaptées pour les patients présentant de la diarrhée et des tests discordants, au minimum le temps que la discussion clinico-biologique et la recherche d'autres causes possibles statuent sur le cas, ce qui est cohérent avec les dernières recommandations nord-américaines de 2022 [9] ;
- maintenir en chambre individuelle, si possible, les patients asymptomatiques porteurs de souche de *C. difficile* toxinogène, notamment s'ils doivent bénéficier d'une antibiothérapie puisque la probabilité pour ces patients de développer une infection est particulièrement élevée.

1- GDH : glutamate déshydrogénase.

2- PCR : *Polymerase chain reaction*, réaction en chaîne par polymérase.

Tests d'amplification génique par méthode PCR

TESTS PCR CIBLANT UNIQUEMENT *C. DIFFICILE*

La recherche de toxine de *C. difficile* peut se faire par PCR ciblant les gènes codant les toxines. Ce sont des tests génotypiques très sensibles qui mettent en évidence les gènes recherchés sans néanmoins pouvoir attester de leur expression. Leur utilisation au début des années 2000 a été responsable, au moins en partie, d'une augmentation des cas diagnostiqués dans de nombreux pays sans qu'il soit possible de faire la part entre le diagnostic de nouvelles infections et l'augmentation de la détection du portage asymptomatique de souches toxinogènes (Encadré). Certains tests PCR commercialisés sont complètement automatisés (extraction, amplification et révélation). Certaines trousse commerciales recherchent également d'autres cibles comme la toxine binaire, ou permettent l'identification présumptive du clone O27.

PANELS DE TESTS PCR CIBLANT PLUSIEURS

PATHOGÈNES DIGESTIFS DONT *C. DIFFICILE*

Nous avons évoqué, dans un précédent numéro de cette rubrique, les panels syndromiques qui combinent dans une même réaction PCR plusieurs cibles bactériennes, virales ou parasitaires adaptées à un contexte pathologique particulier (diarrhée, infection respiratoire, infection sexuellement transmissible, méningite...), d'où le terme « panel syndromique » [10]. Au sein des panels gastro-intestinaux, la recherche des toxines de *C. difficile* est très souvent incluse.

Autres tests

La méthode historique de référence pour la détection des toxines libres (test de cytotoxicité sur culture cellulaire) n'est plus utilisée en dehors des centres de référence.

Algorithme diagnostique

Plusieurs algorithmes décisionnels ont été validés par les sociétés savantes lorsqu'une demande de recherche de toxine de *C. difficile* est prescrite [8,11]. Le premier algorithme est constitué de trois étapes : recherche de GDH puis, en cas de recherche positive, recherche de toxines libres par test immunochromatographique ou immuno-enzymatique puis, si ce second test est négatif, recherche des gènes de toxines par PCR (Figure 3a). Un second algorithme en deux étapes est également possible : recherche combinée de la GDH et de la toxine libre par un test « combo » puis en cas de discordance (GDH présente et toxine libre absente) ; puis recherche des gènes de toxines par PCR (Figure 3b). Enfin, certains laboratoires utilisent en première intention un test PCR et recherchent ensuite la présence de toxines libres en cas de PCR positive.

Figure 3 – Algorithme décisionnel pour le diagnostic microbiologique des infections à *C. difficile* (ICD).

Figure 3a – Algorithme en trois étapes.

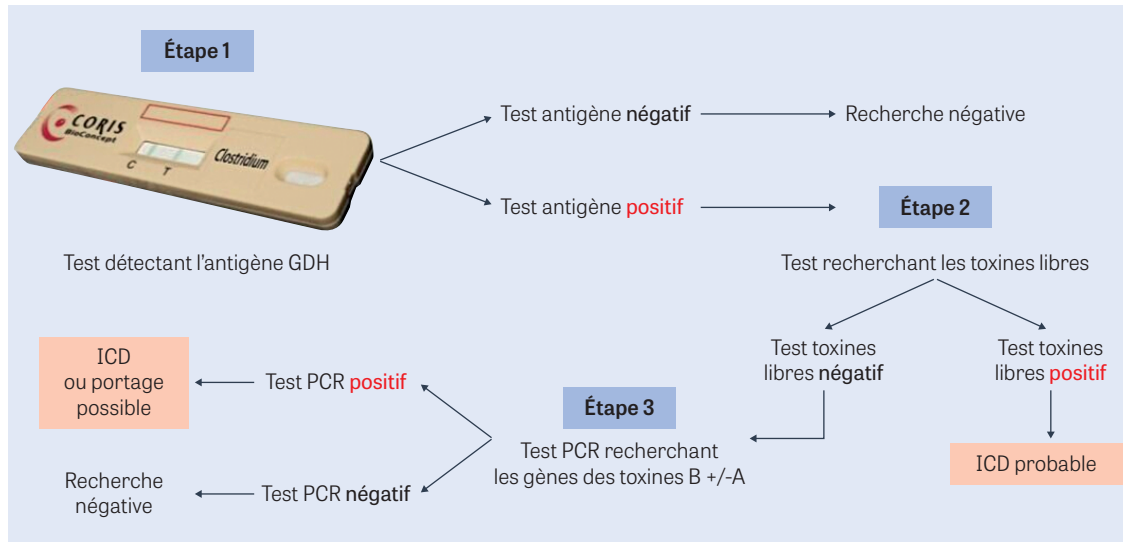
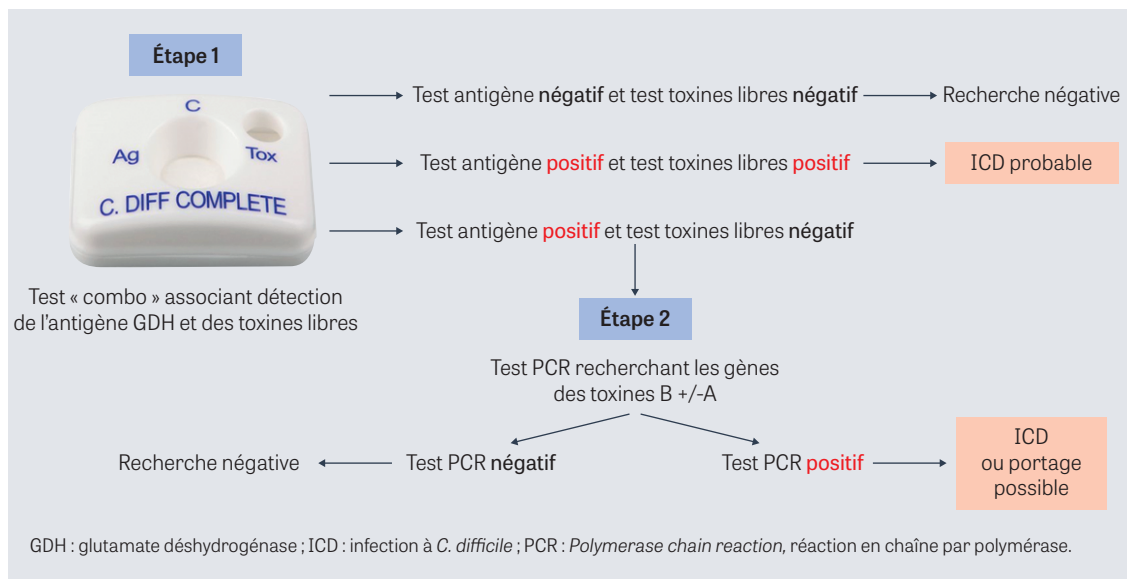


Figure 3b – Algorithme en deux étapes.



Interprétation des résultats

Les trois cas de figure les plus simples sont les suivants :

- Test GDH négatif, ou test combinant GDH et toxines libres négatif : l'hypothèse diagnostique d'infection à *C. difficile* est écartée. Il n'y a pas lieu de répéter la demande dans les sept jours qui suivent mais de rechercher une autre cause infectieuse (virale notamment) ou non.
- Test GDH positif et recherche de toxines libres positive : l'hypothèse d'une infection digestive à *C. difficile* est très probable.

- Test GDH positif, recherche phénotypique de toxines libres négative mais présence des gènes codant les toxines par les techniques de PCR. C'est la situation discordante la plus fréquente, à l'origine de deux hypothèses diagnostiques diamétralement opposées : simple portage de *C. difficile* toxigène en faible quantité qui ne serait pas responsable des symptômes observés ; authentique infection digestive à *C. difficile* mais dont la quantité de toxine libre présente dans le prélèvement n'est pas suffisante pour être détectée par les techniques phénotypiques.

Le choix entre ces deux hypothèses doit se faire après discussion entre clinicien prenant en charge le patient, microbiologiste et infectiologue en fonction du contexte clinique et notamment des facteurs de risque (antibiothérapie, antécédent d'infection à *C. difficile*...) et de la présence d'autres causes pouvant expliquer les symptômes (**Encadré**).

Il existe d'autres profils de réponse plus rares :

- Test GDH et toxines libres négatifs et PCR pour la recherche de toxine positive (notamment lorsqu'un panel syndromique est réalisé en parallèle d'une recherche isolée de *C. difficile*) sans que l'on sache quel test doit être considéré en fine.

- Tests PCR discordants (PCR ciblant isolément l'ADN⁴ de *C. difficile* négative et PCR du panel positive, ou inversement). Les différents tests PCR n'ayant pas les mêmes caractéristiques techniques, leurs performances et notamment leur sensibilité et leur spécificité peuvent en effet varier (les tests isolés sont parfois plus sensibles).

Dans ces situations inhérentes à la multiplication des tests pour une même analyse, une discussion clinico-biologique est là aussi indispensable pour interpréter ces résultats discordants.

Prise en charge thérapeutique

Le traitement des infections à *C. difficile* a évolué, privilégiant l'utilisation de fidaxomicine ou de vancomycine par rapport au traitement « historique » par le métronidazole [12]. Au-delà de l'efficacité du traitement sur l'épisode en cours, il est important d'évaluer sa capacité à éviter les récurrences. D'autres solutions pour limiter la survenue de ces récurrences sont désormais disponibles ou sur le point d'être commercialisées : perfusion d'anticorps antitoxine, greffe fécale à partir de selles de donneur sains, cocktails bactériens...

Antibiogramme: une autre exception propre à *C. difficile*

De manière inattendue, le choix de la molécule à utiliser pour traiter les infections digestives à *C. difficile* n'est pas basé sur l'évaluation in vitro de la sensibilité de la souche aux antibiotiques par la réalisation systématique d'un antibiogramme [13]. L'infection étant intraintestinale, la majorité des molécules utilisées (vancomycine, fidaxomicine) ne passent pas la barrière intestinale et par conséquent ne se retrouvent pas dans le sang. Les concentrations minimales inhibitrices qu'il est néanmoins possible de mesurer devraient donc être interprétées en fonction des concentrations d'antibiotiques atteignables à l'intérieur du tube digestif. Le comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie ne donne pas de concentration critique pour évaluer la sensibilité des souches de *C. difficile* à la fidaxomicine, alors qu'au niveau européen une valeur

a été établie [14,15]. Concernant la sensibilité au métronidazole ou à la vancomycine, les résistances sont parfois dues à des aléas techniques comme la qualité de l'anaérobiose pour le métronidazole. Des souches de sensibilité diminuée à ces molécules ont été exceptionnellement isolées dans des contextes cliniques particuliers; elles doivent faire l'objet d'une expertise par un centre de référence. Il est admis qu'à ce jour il n'y a pas de corrélation directe entre la sensibilité évaluée in vitro et l'évolution clinique [15]. L'intérêt de ces antibiogrammes est donc discutable.

Mise en place des précautions complémentaires en cas de recherche positive

Dès la suspicion d'une diarrhée à *C. difficile*, des précautions complémentaires spécifiques doivent être mises en œuvre : chambre individuelle avec toilettes privatives, port de gants et d'une surblouse à usage unique, élimination des excréta en tant que déchets d'activité de soins à risque infectieux (Dasri), association de la friction hydro-alcoolique et du lavage simple pour l'hygiène des mains, bionettoyage de l'environnement à l'aide d'une solution désinfectante sporicide. Ces mesures peuvent être levées 48 heures après la disparition des symptômes, indépendamment de la durée du traitement antibiotique prescrit. Il est recommandé de ne pas contrôler microbiologiquement la guérison : en effet les tests peuvent rester positifs alors que le risque de contamination lié notamment aux symptômes est contrôlé 48 heures après la disparition de ces symptômes [9]. L'identification présomptive d'un clone particulier (ribotype O27 par exemple) par certaines troupes génomiques ciblant *C. difficile* ne justifie pas plus qu'une surveillance renforcée de l'observance des mesures habituelles.

Place de la transmission croisée en milieu hospitalier

La survenue d'une infection à *C. difficile* peut avoir plusieurs origines. Elle est initialement liée à une altération du microbiote intestinal qui ne joue plus suffisamment son rôle de « barrière » vis-à-vis de la présence de spores d'une souche toxigène de *C. difficile* dans le tube digestif, qui vont germer. L'origine de ces spores est multiple :

- présence préalable dans le tube digestif : c'est alors une infection endogène d'un patient initialement « porteur sain » ;
- contamination à partir de spores présentes dans l'environnement. À l'hôpital, les porteurs asymptomatiques ou les patients symptomatiques non diagnostiqués peuvent contaminer parfois massivement l'environnement par des spores habituellement résistantes aux désinfectants utilisés en routine (ammoniums quaternaires...). Le bionettoyage de l'environnement autour de cas diagnostiqués

4- Acide désoxyribonucléique.

peut également être incomplet. Il est bien établi dans la littérature que la probabilité de développer une infection à *C. difficile* est plus importante lorsqu'un patient est admis dans une chambre ayant abrité un patient infecté par *C. difficile* que quand ce n'est pas le cas [16];

- transmission croisée entre deux patients par l'intermédiaire des mains des soignants ou du matériel partagé;
- contamination par l'alimentation. Des souches de *C. difficile* toxigène ont été retrouvées dans différents aliments, y compris en France.

Une étude récente basée sur le séquençage complet du génome de toutes les souches isolées dans un service de réanimation pendant neuf mois, y compris celles des porteurs asymptomatiques, a montré que le nombre de patients qui acquéraient une souche de *C. difficile* au cours de leur hospitalisation par transmission croisée était de l'ordre de 1% [17]. Les auteurs soulignaient que cela confortait l'efficacité des mesures actuellement recommandées pour limiter la transmission croisée.

Dépistage des patients porteurs de souches de *C. difficile* toxigène à l'admission

À ce jour, le dépistage des patients asymptomatiques n'est recommandé par aucune société savante. La gestion d'un nombre de patients porteurs probablement non négligeable n'est pas codifiée par des études scientifiques tranchées, ce qui serait par ailleurs à l'origine d'une augmentation importante de patients en précautions complémentaires sans qu'un bénéfice collectif ne soit établi [9].

Décontamination de l'environnement

La présence de spores, forme de résistance particulièrement efficace vis-à-vis des désinfectants habituellement utilisés, nécessite l'utilisation de composés chimiques spécifiques. Les molécules sporicides utilisées pour la désinfection de l'environnement sont dérivées du chlore ou de peroxydes comme l'acide peracétique. Une nouvelle version de la norme visant à tester l'efficacité des formulations revendiquant une efficacité contre les spores de *C. difficile* a amené les fabricants à augmenter les concentrations ou les durées d'action. D'un point de vue pragmatique, ces mesures sont très importantes à la sortie du patient, moment où la durée d'application du désinfectant dans la chambre n'est plus un facteur limitant son efficacité. Concernant les lingettes revendiquant une activité sporicide, il est

probable que celle-ci soit due à l'effet d'essuyage plus qu'à une efficacité sporicide intrinsèque. Ces dispositifs sont néanmoins intéressants pour la désinfection du petit matériel qui ne peut pas être dédié à l'intérieur des chambres de patients infectés et qui ne supporte pas l'utilisation de désinfectants à base d'eau de Javel ou d'acide peracétique. L'eau de Javel, correctement diluée, conservée et utilisée, reste un désinfectant peu onéreux et très efficace. Une étude publiée récemment avait remis en cause son efficacité sur différentes souches de *C. difficile* [18]. Le comité scientifique de la Société française d'hygiène hospitalière et le centre national de référence de *C. difficile* y ont répondu conjointement en soulignant les limites, les biais et les incohérences de cet article [19].

Autres micro-organismes responsables de diarrhées nosocomiales

Au-delà de *C. difficile*, il est important de noter que certains virus sont responsables de diarrhées nosocomiales, notamment en période d'épidémies hivernales. Ce sont principalement des norovirus, mais aussi des sapovirus, adénovirus ou rotavirus. Leurs présentations cliniques (présence de vomissement), l'allure fortement épidémique qu'il est parfois possible de qualifier d'explosive et la présence de cas secondaires chez les soignants permettent de s'orienter vers des tests moléculaires ou antigéniques ciblant les norovirus, ou vers des panels syndromiques regroupant différents pathogènes digestifs dont les virus.

Conclusion

Lors de la dernière enquête nationale de prévalence, 16,24% des patients hospitalisés un jour donné en France bénéficiaient d'un traitement par antibiotique à usage systémique, chiffre en augmentation de 7,5% par rapport à l'enquête précédente [3]. Les infections à *C. difficile* constituent donc toujours un risque pour les patients et un sujet d'inquiétude pour les soignants. Les craintes de diffusion de clones particulièrement virulents et transmissibles du début des années 2000 se sont progressivement éloignées. En parallèle, le nécessaire bon usage des antibiotiques qui passe par celui des tests diagnostiques, a amené les microbiologistes à recommander la réalisation des tests uniquement chez les patients suspects d'infection et pas seulement porteurs, et de proposer des algorithmes diagnostiques en plusieurs étapes. Les hygiénistes doivent bien connaître ces différentes situations et contribuer par leur expertise à la gestion du risque de transmission croisée immédiat et à venir. ■

Références

- 1- Lawson PA, Citron DM, Tyrrell KL, et al. Reclassification of *Clostridium difficile* as *Clostridioides difficile* (Hall and O'Toole 1935) Prévot 1938. *Anaerobe*. 2016;40:95-99.
- 2- Colomb-Cotinat M, Assouvie L, Durand J, et al. Epidemiology of *Clostridioides difficile* infections, France, 2010 to 2017. *Euro Surveill*. 2019;24(35):1800638.

- 3- Santé publique France (SPF). Principaux résultats de l'enquête nationale de prévalence 2022 des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissement de santé. Saint Maurice: SPF; 2023. 26 p. Accessible à : <https://www.santepubliquefrance.fr/content/download/535840/3919340?version=1> (Consulté le 12-02-2024).
- 4- Couturier J, Lepage P, Jolivet S, et al. Gut microbiota diversity of preterm neonates is associated with *Clostridioides difficile* colonization. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022;12:907323.
- 5- Skally M, Bennett K, Humphreys H, et al. Rethinking *Clostridioides difficile* infection (CDI) surveillance definitions based on changing healthcare utilisation and a more realistic incubation period: reviewing data from a tertiary-referral hospital, Ireland, 2012 to 2021. *Euro Surveill.* 2024;29(6):2300335.
- 6- Barbut F, Day N, Bouée S, et al. Toxigenic *Clostridium difficile* carriage in general practice: results of a laboratory-based cohort study. *Clin Microbiol Infect.* 2019;25(5):588-594.
- 7- Crobach MJ, Planche T, Eckert C, et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the diagnostic guidance document for *Clostridium difficile* infection. *Clin Microbiol Infect.* 2016;22(Suppl 4):S63-S81.
- 8- Haute Autorité de santé (HAS). Modification de la nomenclature des actes de biologie médicale pour les actes de diagnostic biologique des infections à *Clostridium difficile* [Internet]. Saint-Denis: HAS; 2016. Accessible à : https://www.has-sante.fr/jcms/c_2607794/fr/modification-de-la-nomenclature-des-actes-de-biologie-medecale-pour-les-actes-de-diagnostic-biologique-des-infections-a-clostridium-difficile (Consulté le 12-02-2024).
- 9- Kocielek LK, Gerding DN, Carrico RM, et al. Strategies to prevent *Clostridioides difficile* infections in acute-care hospitals: 2022 update. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2023;44(4):527-549.
- 10- Decousser JW. Les tests d'amplification en chaîne par polymérase (PCR) multiplexes et les panels syndromiques. *Hygiènes.* 2022;30(4):305-311.
- 11- Gateau C, Couturier J, Coia J, et al. How to diagnose infection caused by *Clostridium difficile*? *Clin Microbiol Infect.* 2018;24(5):463-468.
- 12- van Prehn J, Reigadas E, Vogelzang EH, et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: 2021 update on the treatment guidance document for *Clostridioides difficile* infection in adults. *Clin Microbiol Infect.* 2021;27(Suppl 2):S1-S21.
- 13- Romano-Bertrand S, Pozzetto B, Decousser JW. L'antibiogramme: objectifs, méthodes et interprétation. *Hygiènes.* 2023;31(3):253-258.
- 14- Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie (CA-SFM), European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Recommandations 2023. Paris: SFM; 2023. 177 p. Accessible à : https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2023/06/CASFM2023_V1.0.pdf (Consulté le 12-02-2024).
- 15- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Clinical breakpoints: breakpoints and guidance [Internet]. Växjö (SE): EUCAST; 2023. Accessible à : https://www.eucast.org/clinical_breakpoints (Consulté le 12-02-2024).
- 16- Witt LS, Howard-Anderson J, Prakash-Asrani R, et al. The role of the hospital bed in hospital-onset *Clostridioides difficile*: a retrospective study with mediation analysis. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2023;13:1-5. Online ahead of print.
- 17- Miles-Jay A, Snitkin ES, Lin MY, et al. Longitudinal genomic surveillance of carriage and transmission of *Clostridioides difficile* in an intensive care unit. *Nat Med.* 2023;29(10):2526-2534.
- 18- Ahmed H, Joshi LT. *Clostridioides difficile* spores tolerate disinfection with sodium hypochlorite disinfectant and remain viable within surgical scrubs and gown fabrics. *Microbiology (Reading).* 2023;169(11):001418.
- 19- Decousser JW, Barbut F, Baron R, et al. Comments on the tolerance of *Clostridioides difficile* spores to disinfection with sodium hypochlorite disinfectant. *Microbiology.* 2024. In press.
- 20- Le Monnier A, Candela T, Mizrahi A, et al. One-day prevalence of asymptomatic carriage of toxigenic and non-toxigenic *Clostridioides difficile* in 10 French hospitals. *J Hosp Infect.* 2022;129:65-74.
- 21- Jolivet S, Couturier J, Grohs P, et al. Prevalence and risk factors of toxigenic *Clostridioides difficile* asymptomatic carriage in 11 French hospitals. *Front Med.* 2023;10:1221363.

Citation

Couturier J, Romano-Bertrand S, Pozzetto B, Barbut F, Decousser JW. Diagnostic et prise en charge des diarrhées à *Clostridioides difficile*. *Hygiènes.* 2024;32(1):61-69.

Historique

Reçu 15 février 2024 – Accepté 22 février 2024 – Publié 22 mars 2024

Financement : les auteurs déclarent ne pas avoir reçu de financement.

Liens d'intérêt : les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêt.