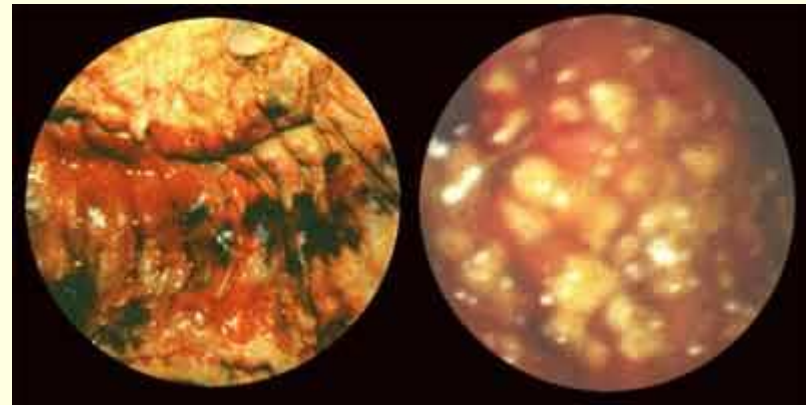
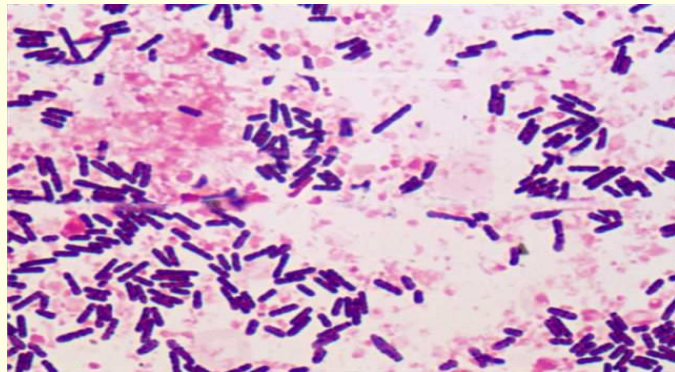
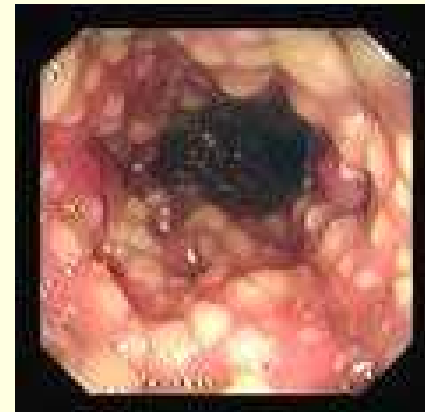
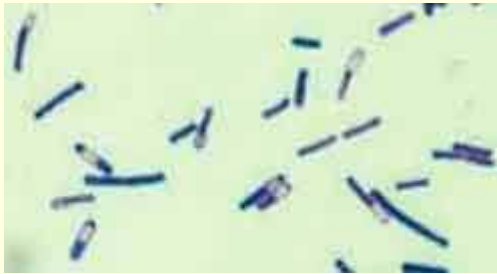


Clostridium difficile



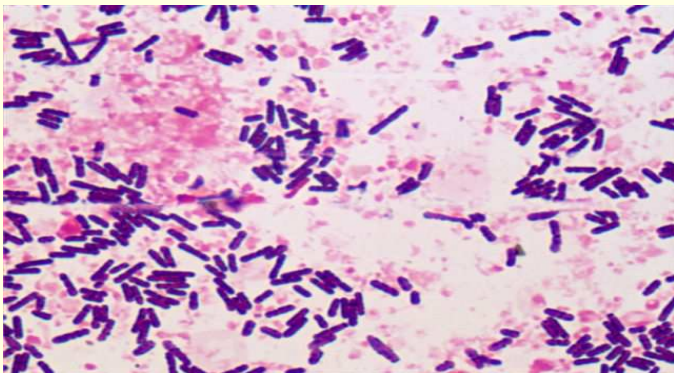
Caractères bactériologiques



1- Généralités

Bacille Gram +, anaérobie strict = entéropathogène

- diarrhées post antibiothérapie
- colite pseudo-membraneuse (**CPM**)
- diarrhées nosocomiales de l'adulte +++



2- Historique

- ▶ 1^o description de la CPM: 1893 (Finney)
- ▶ 1935: description d'une bactérie présente dans les selles de nouveau-né asymptomatique: *Bacillus difficile*
- ▶ 1978: établissement du rôle de *Cd* dans la CPM: utilisation de la **clindamycine** → flambée de CPM
- ▶ 1982: caractérisation du rôle des toxines **A** et **B** dans la physiopathologie
- ▶ 1990: tests immuno-enzymatiques

3-Habitat

- ▶ **Tube digestif:** ● portage asymptomatique chez 3% des adultes
 - 15 à 25% des patients hospitalisés ou ayant reçu une antibiothérapie
 - 50 à 70% des enfants de – 2 ans: les pathologies dues à **Cd** st rares alors que le portage des souches toxigènes est fréquent: cet état de R , mal élucidé, serait du à l'immaturité des récepteurs des cellules intestinales pour les toxines
- ▶ **Commensal du tube digestif chez l'animal:** porc...
- ▶ **Sol et eau:** mer, rivière, piscine: sous forme sporulé (grande résistance)

4-Pouvoir pathogène

4-1- Clinique

- ▶ Transmission oro-fécale
 - ▶ Bactérie la + souvent responsable de diarrhées nosocomiales de l'adulte
 - ▶ CD est responsable de 15-25 % des diarrhées post AB:
 - ▶ diarrhée modérée, sans signes généraux
 - ▶ **colite pseudo membraneuse (CPM)**: diarrhée aqueuse, muqueuse, rarement sanglante + fièvre
- A l'endoscopie: infiltration inflammatoire de la muqueuse colique: plaques jaunâtres de 2 à 20mm = exsudat fibrino-leucocytaire à travers la nécrose épithéliale
- ▶ Complications: méga colon toxique, perforation digestive, décès
 - ▶ L'évolution dépend du taux IgG circulants et d'IgA locales

4-Pouvoir pathogène

4-2- Facteurs de pathogénicité

4-2-1- Les toxines

► **Toxine A**: protéine de 308Kd - gène *tcdA*

Entérotoxine: principal facteur de pathogénicité

- désorganisation du squelette d'actine
- réponse inflammatoire: afflux de PN et de cellules mononuclées
- libération de cytokines avec effet nécrosant + ↑ de la perméabilité, fuite liquidienne

► **Toxine B**: protéine de 250 Kd: gène *tcdB*

- cytotoxique: agit sur un composant de la synthèse d'actine (Protéine Rho)
- action synergique avec **A(cyto-squelette d'actine)**

4-Pouvoir pathogène

Souches A-/ B+: pathogènes; rares < 3% en GB, Japon, exceptionnelles en F

Souches A-/ B-: non pathogènes

- ▶ **Toxine binaire:** 2 gènes codant: *cdtA* et *cdtB*
 - tj associée à A et B
 - ADP ribosyltransférase, spécifique de l'actine
 - 6 à 15% des souches, **tj présente chez 027**
 - rôle patho?: renforcerait l' action de A et B

4-2-2- Autres facteurs de virulence

- ▶ Adhésines
- ▶ Enzymes: hyaluronidases, protéases

4-Pouvoir pathogène

4-2-3- Souche 027

2006: cas groupés d'ICD ds 13 établissements de santé du nord Pas de Calais → mis en évidence d'une souche particulière: ribotype 027:

- hypervirulente
- épidémique (canada→GB→Belgique)
- hyperproduction de toxines A(x16) et B(x23)
- Toxine binaire présente
- R : fluoroquinolones et macrolides

4-2-3-Souche 078: souche Sud

- émergence depuis 2006, et ↓ de 027
- Virulence similaire à 027
- Toxines **A+ B + binaire**

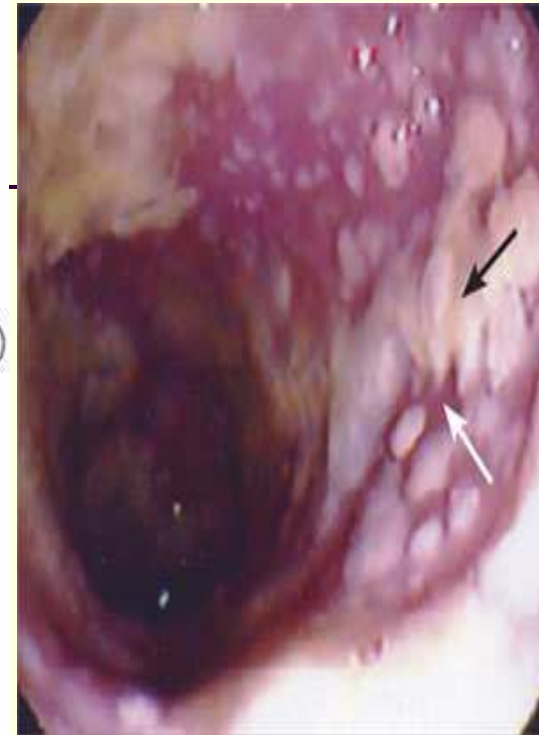
Toxine A (liaison à un récepteur de la bordure en brosse)

Toxine B (récepteur ??)

Recrutement de PNN, cytokines, inflammation +++

Activité cytotoxique (Rho)
Dépolymérisation des filaments d'actine
Augmentation de la perméabilité

Altération de la muqueuse
Nécrose, Diarrhée, CPM



5- Diagnostic bactériologique

5- 1- Le Δ bactériologique repose sur la recherche des toxines

5-1-1- Prélèvements

- Selles liquides ou glaireuses, fraîchement émises ou conservées à +4°C ou -80°C

- Biopsie colique



5- Diagnostic bactériologique

5-2-1- Recherche des toxines

▶ **ECP** de la toxine **B** sur culture cellulaire

méthode de référence: sur filtrat de selles:

bonne sensibilité, mais absence de standardisation
et délai de réponse trop long > 2j



5- Diagnostic bactériologique

▶ Tests immuno-enzymatiques

Tests immuno-chromatographiques

Plusieurs commercialisés:

▶ Toxine **A+ GDH**
(glutamate déshydrogénase)

▶ 2 Toxines **A+B**

Spécificité ~98%, sensibilité ~90%

tests rapides < 30min

▶ PCR

Ex: PCR en temps réel

Sensibilité: 97%, spécificité: 93%
+027



5- Diagnostic bactériologique

5-2- Mise en évidence de *Cd*

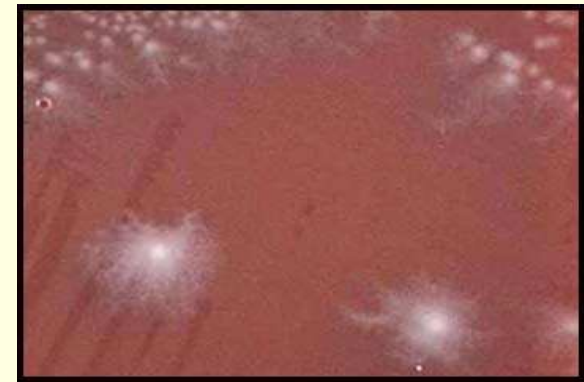
5-2-1-ED des selles

Gram: déséquilibre de la flore
avec de nb bacilles **Gram+**, svt sporulés



5-2-2- Culture

Milieu sélectif : GS+cyclosérine
+ céfoxitine + amphotéricine B
48h en anaérobiose
odeur (crésol)



5-2-3- Identification

Api 20A ou 32A



5- Diagnostic bactériologique

5-3- Conduite à tenir

5-3-1- Recherche **systematique** des Toxines A et B par technique rapide :

- Prescription médicale
- Selles liquides, glaireuses....
- Urgence , contexte d'épidémie ou d'IN

Toxines A + B positives → culture

La souche est congelée à -80°C et repiquée en gélose profonde en cas d'envoi au CNR

5- Diagnostic bactériologique

5-3-2-Déclaration et envoi des souches Toxines A et B +

► Le biologiste avertit le clinicien :

- Notions de cas groupés ou d'IN ?
- ICD sévère?

1 des critères suivants : - admission pour diarrhée grave
d'origine communautaire

- admission en Réa
- hyperleucocytose $\geq 20000/\text{mm}^3$
- colectomie pour mégacolon
- décès dans les 30 j qui suivent le début

des symptômes

- Le biologiste avertit le service d'hygiène → CLIN-SO → DDAS et CCLIN
- La souche est envoyée au CNR pour la recherche du clone O27 par ribotypie(ou 078)

6-Typage

6-1-Sérogroupe

- ▶ 11 sérogroupe A, B, C, D, F, G, H, I, K, S, X (protéine de paroi):

- ▶ Corrélation entre certains sérogroupe et la pathogénicité : les souches toxigènes isolées lors de CPM appartiennent à certains sérogroupe: **A, C, G, H et K**

- ▶ **B, D, I et X**: non toxigènes

- ▶ **F** : 1 seule toxine (B), pas de pathogénicité chez hamster

- ▶ **X** : 2 toxines mais ne donne aucune patho chez le hamster

Nouveau né ou enfant asymptomatique: **B, F et X**

6-2-PCR ribotypage→150 ribotypes

6-3-Toxinotypage→ 24 toxinotypes

7- ABG

7-1- Sensibilité aux AB

- β lactamines : R : céfoxitine (R naturelle)
céfotaxime (90%)
faible sensibilité à l'imipenem (1 à 16 μ g)
- Erythro: 20 à 80% de R
- Clinda :> 50%
- Métronidazole: rares souches de sensibilité diminuée en F: souches non toxigènes (D): 0 à 5%
- Vanco: 0 à 3%: sensibilité↓

Remarque:

027: R: FQ: cipro, moxi, gati, lévo + érythro, clinda

078: R: Erythro, clinda

7-2-Traitement

Métronidazole ou Vancomycine pd 10j



Facteurs de risque

1- Facteurs liés aux AB

1-1- Mécanisme

Pression de sélection

AB à large spectre modifiant les flores, en particulier anaérobie, favorisant ainsi le développement de *Cd*, *R* à ces AB :ex: rôle des FQ dans l'émergence des souches 027

1-2- Epidémiologie

- 10 à 25% des diarrhées post AB
- 90% des diarrhées à *Cd* surviennent lors d'une ABthérapie
- 1^o étiologie des diarrhées nosocomiales

1-3- Durée du traitement

- Ttt longs+++
- Dose totale: sans grande influence, 1 seule dose en prophylaxie peut suffire

1- Facteurs liés aux AB

1- 4- AB incriminés

▶ **Fréquent:**

- Céphalosporines
- Amoxicilline+ ac clavulanique
- **Clindamycine**
- FQ

▶ **Peu fréquent:**

- macrolides
- autres β **lactamines**
- cyclines,

▶ **Exceptionnel:**

- métronidazole

▶ **Association d'AB**

▶ **En fait tous sauf les aminosides**

2- Autres thérapeutiques

2-1-Chimiothérapie anticancéreuse

2-2-Thérapeutiques modifiant l'écosystème digestif ou la motilité intestinale:

- laxatifs
- antiacides
- ralentisseurs du transit....
- chirurgie gastro-intestinale

3- Facteurs liés à l'hôte

3-1- Age

- > 65ans: + de 80% des cas
- modification de la flore, ↓ de l'immunité

3-2- Pathologies sous jacentes

- déficit Itaire: ↓ des IgG et des IgA sécrétoires: taux + faibles chez les patients ayant des formes sévères
- affection digestive chronique

4-Facteurs liés à l'environnement

Transmission par manuportage ou à partir de l'environnement contaminé, ce qui explique la facilité d'acquisition en milieu hospitalier: ex: portage: 5 à 25% chez hospitalisés

→ 30% lors de cas d'ICD ds 1 service

4-1- Dissémination des souches dans l'environnement des patients ayant une ICD

4-2- Spores

Persistent + de 40j sur des supports inertes: lavabo, lit, tables de nuit, stéthoscopes

R à de nb désinfectants

4-3- Promiscuité

Acquisition de *Cd* en moins de 4 j chez un patient hospitalisé dans la même chambre qu'un porteur

4-4 - Manuportage par le personnel soignant

4-5- Durée de l'hospitalisation

Conclusion

- Seules les souches **toxino-gènes** sont **pathogènes**
- Toute **diarrhée nosocomiale** et/ ou post **antibiothérapie** doit faire l'objet d'une recherche de *Cd*
- **Risque épidémique**: spores très résistantes
- Transmission manuportée
→mesures d'hygiène
- Δ d'urgence: **intérêt des tests rapides**
- **Si ICD sévère**: recherche de la souche épidémique et hypervirulente **027(et 078)**→CNR