



HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ

ARGUMENTAIRE

Modification de la nomenclature des actes de biologie médicale pour les actes de diagnostic biologique des infections à *Clostridium difficile*

Juillet 2016

Cet argumentaire d'avis est téléchargeable sur
www.has-sante.fr

Haute Autorité de santé

Service communication - information

5, avenue du Stade de France – F 93218 Saint-Denis La Plaine Cedex

Tél. : +33 (0)1 55 93 70 00 – Fax : +33 (0)1 55 93 74 00

Sommaire

Abréviations et acronymes	4
Résumé.....	5
Introduction.....	6
1. Contexte	7
1.1 Source d'information.....	7
1.2 Infections à <i>Clostridium difficile</i>	7
1.3 Stratégie diagnostique des infections à <i>Clostridium difficile</i>	11
1.4 Présentation des différents tests diagnostiques	12
1.5 Conditions actuelles de la prise en charge par l'Assurance maladie	14
2. Méthode d'évaluation	15
2.1 Champ de l'évaluation.....	15
2.2 Recherche documentaire, sélection et analyse	15
2.3 Recueil du point de vue des professionnels	17
3. Résultats de l'évaluation.....	18
3.1 Analyse de la littérature.....	18
3.2 Synthèse du point de vue des parties prenantes interrogées.....	37
4. Synthèse et conclusion.....	42
Annexe 1. Exemple d'algorithmes diagnostiques proposés par la recommandation de l' <i>American Society for Microbiology</i> de 2010 (23).....	44
Annexe 2. Avantages et inconvénients des méthodes de diagnostic des infections à <i>Clostridium difficile</i> ...	45
Annexe 3. Recherche documentaire.....	46
Annexe 4. Grilles d'évaluation	49
Annexe 5. Points de vue des organismes professionnels	51
Annexe 6. Liste des tableaux et figures.....	67
Références	68
Fiche descriptive.....	70

Abréviations et acronymes

CépiDc	Centre d'épidémiologie sur les causes médicales de décès
<i>C. difficile</i>	<i>Clostridium difficile</i>
CNR	Centre national de référence
CPM	Colite pseudo-membraneuse
Ct	Cycle seuil d'amplification
EIA	Test immuno-enzymatique ou immuno-chromatographique
GDH	Glutamate déshydrogénase
HCSP	Haut conseil de santé publique
ICD	Infection à <i>Clostridium difficile</i>
NABM	Nomenclature des actes de biologie médicale
NHS	National Health Service
NR	Non renseigné
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PP	Parties prenantes
PMSI	Programme de médicalisation des systèmes d'information
RBP	Recommandations de bonne pratique
TAAN	Test d'amplification des acides nucléiques

Résumé

Objectif

L'objectif de ce travail est d'évaluer la détection de la glutamate déshydrogénase du *C. difficile* avec une méthode immuno-enzymatique ou immuno-chromatographique et la détection de l'acide désoxyribonucléique de cette bactérie, plus spécifiquement celui codant pour les toxines A et / ou B, avec un test d'amplification des acides nucléiques, lorsque qu'une infection à *C. difficile* (ICD) est suspectée. Ce travail a été mené en vue de l'inscription à la liste des actes de biologie médicale, pris en charge par le système national d'assurance maladie en France.

Méthode

La méthode a consisté à réaliser une analyse critique de la littérature synthétique identifiée (recommandations de bonne pratique, rapports d'évaluation technologique, revues systématiques et méta-analyses) après une recherche documentaire systématique et sélectionnée sur des critères de qualité méthodologique, puis à recueillir la position des organismes professionnels de santé concernés (médecine générale, hépato-gastro-entérologie, gériatrie, hygiéniste, infectiologie, biologie clinique, et laboratoire associé au Centre national de référence des bactéries anaérobies et du botulisme).

Conclusion

Les deux examens étudiés font partie des outils diagnostiques actuels valides d'identification d'une ICD. Il n'a cependant pas été possible de définir précisément leurs places dans la démarche diagnostique, notamment car plusieurs stratégies diagnostiques existent.

La détection de la glutamate déshydrogénase de *C. difficile* avec une méthode immuno-enzymatique ou immuno-chromatographique peut être utilisée uniquement comme examen de tri, devant être suivie en cas de résultat positif, d'un examen permettant de déterminer le caractère toxigène du *C. difficile* ainsi identifié.

Les TAANs utilisés doivent cibler le gène de la toxine B et/ou de la partie conservée du gène de la toxine A de *C. difficile* pour reconnaître la quasi-totalité des souches, sachant qu'avec ce type de test :

- un résultat négatif ne doit notamment pas faire oublier la probabilité d'une infection à *C. difficile* due à une souche produisant la toxine binaire (codée par un gène spécifique) ;
- un résultat positif ne doit pas faire oublier la probabilité d'un portage asymptomatique d'une souche toxigène de *C. difficile* ;
- un résultat positif ne permet pas d'identifier la souche 027, ce qui nécessite le ciblage de son gène régulateur.

En conséquence, le diagnostic doit être posé et la décision de traitement prise sur l'ensemble des données à la disposition du clinicien, et pas seulement sur le résultat du TAAN, qui doit faire l'objet d'un dialogue biologico-clinique. Les techniques de TAANs sont de type PCR (plus étudiée et plus utilisée) ou de type LAMP ; le résultat d'un TAAN est qualitatif.

Par ailleurs, l'indication de recherche de *C. difficile* est une suspicion d'ICD en cas de :

- diarrhée survenant post-antibiothérapie ;
- diarrhée nosocomiale ;
- diarrhée communautaire persistante et sans amélioration au-delà de 3 jours malgré le traitement symptomatique ou associée d'emblée à des signes de gravité, avec ou sans antibiothérapie ;
- colite pseudo-membraneuse.

La recherche de *C. difficile* n'a pas d'utilité dans le suivi du traitement.

Introduction

Dans le cadre de l'article L. 162-1-7 du code de la sécurité sociale, la Caisse nationale d'assurance maladie des travailleurs salariés (CNAMTS) a sollicité, en septembre 2015, l'avis de la HAS sur la révision de la Nomenclature des actes de biologie médicale (NABM) concernant le diagnostic des infections à *Clostridium difficile*.

Comme annoncé dans la feuille de route (1) de ce travail, l'objectif est d'évaluer la recherche de *C. difficile* par détection de l'acide désoxyribonucléique (ADN), plus spécifiquement celui codant pour les toxines, avec un test d'amplification des acides nucléiques (TAAN) ou par détection de la glutamate déshydrogénase (GDH) avec un test immuno-enzymatique ou immunochromatographique, en réalisant une analyse critique des données de la littérature synthétique identifiées suite à une recherche documentaire systématique, et en recueillant la position des organismes professionnels concernés.

1. Contexte

1.1 Source d'information

Ce chapitre de contexte a été rédigé à partir d'une revue non systématique de la littérature ayant inclus :

- pour la littérature : revues générales, revues systématiques, rapports d'évaluation, recommandations de bonne pratique, ouvrages didactiques, encyclopédie médico-chirurgicale ;
- pour les données épidémiologiques : Scansanté, Cépidec, InVS.

1.2 Infections à *Clostridium difficile*

C. difficile est un bacille à Gram positif, sporulé, anaérobie strict, retrouvé dans l'environnement ainsi que dans l'intestin de l'homme et de l'animal. Cette bactérie est responsable de 10 à 25 % des diarrhées post-antibiotiques, de 10 % des diarrhées nosocomiales et de plus de 95 % des colites pseudo-membraneuses¹.

► Souches de *Clostridium difficile* et toxines produites

Il existe des souches toxigènes et non toxigènes de *C. difficile*.

Seules les souches toxigènes de *C. difficile* sont pathogènes. Ces souches sont porteuses de gènes qui codent des toxines qui ont un rôle majeur dans la virulence de la souche : la toxine A ou entérotoxine, et la toxine B ou cytotoxine. Les toxines A et B sont codées par les gènes *tcdA* (8133 pb) et *tcdB* (7098 pb) localisés sur le locus de pathogénicité (PaLoc) ou élément toxigénique. Certaines souches de *C. difficile* toxigènes (16 à 23 %) synthétisent une toxine binaire (codée par les gènes *cdtA* et *cdtB*) qui possède une activité ADP-ribosylation actine-spécifique mais dont le rôle dans la virulence n'est pas encore élucidé (2, 3).

Les toxines A et B sont produites simultanément mais environ 3 % des souches toxigènes ne produisent pas la toxine A (2). Toutefois, les souches A-B+ conservent une portion du gène de la toxine A. Des souches ne produisant que la toxine A ont également récemment été décrites (3), ainsi que dans de rares cas d'ICD, de souches non productrices des toxines A et B mais productrices de la toxine binaire (4).

Une souche toxigène particulière de *C. difficile* dite 027 (en référence à son profil par PCR-ribotypage) ou NAP1 (en électrophorèse en champ pulsé) a été isolée dans quelques établissements de santé français depuis 2005. Elle a été à l'origine d'une situation épidémique dans la région Nord-Pas de Calais en 2006-2007. Cette souche 027 est caractérisée par une hyperproduction de toxines A et B qui serait due à une délétion en position 117 du gène *tcdC* qui assure une régulation négative de la production des toxines A et B (5).

Plus récemment, un nouveau clone, de toxinotype V, PCR-ribotype 078/126, a été détecté en France (6). Il est caractérisé par la présence de gènes codant pour la toxine binaire et par une délétion dans le gène *tcdC* de 39 paires de base. Ce clone est responsable de formes sévères dans une population plus jeune et est plus souvent associé à des formes communautaires que les souches de PCR-ribotype 027 (6).

Les souches de *C. difficile* « non toxigènes » ne produisent pas la toxine du fait de la présence de 115 paires de bases non codantes dans la région PaLoc (à la place des 19 Kb à ce locus dans les souches toxigéniques) (7). Elles ne sont pas pathogènes.

¹ Société française de microbiologie. Référentiel en microbiologie médicale 2015 (4^{ème} édition).

► Définition d'une infection à *Clostridium difficile*

Les recommandations de la Société européenne de microbiologie clinique et des maladies infectieuses de 2009 (8) définissent un épisode d'infection à *C. difficile* (ICD) par un tableau clinique compatible avec une ICD - caractérisé par une diarrhée, un iléus ou un mégacôlon toxique - et la preuve microbiologique de la présence d'une souche de *C. difficile* productrice de toxines dans les selles, sans autre cause évidente responsable de la diarrhée ou une colite pseudomembraneuse (diagnostiquée lors d'une endoscopie, après une colectomie ou à l'autopsie).

Dans son rapport de 2008, le Haut conseil de santé publique (HCSP) recommande lui d'évoquer le diagnostic d'ICD devant la présence de toute diarrhée post-antibiotique, mais aussi en cas d'iléus accompagné de fièvre, de douleurs abdominales ou d'hyperleucocytose. Il recommande également de mettre en place une recherche systématique des toxines de *C. difficile* dans les selles de tout patient présentant une diarrhée nosocomiale (48 heures après le début de son hospitalisation) (9).

► Épidémiologie

Portage asymptomatique

On estime que la présence de *C. difficile* reste asymptomatique au moins deux fois sur trois. Le portage asymptomatique est estimé à 3 % chez l'adulte en population générale, mais s'élèverait de 10 à 25 % en milieu hospitalier selon certaines études. En effet, le portage du *C. difficile* est favorisé par les hospitalisations, notamment les séjours de longue durée (10). Une étude prospective ancienne a montré que 21 % des patients hospitalisés acquièrent *C. difficile* au cours de leur hospitalisation et que parmi eux, environ 1/3 seulement développent une diarrhée liée à cette bactérie (11). Plus récemment, l'étude de Loo et al. (12) incluant 4 134 patients (étude multicentrique) a montré des taux d'acquisition nosocomiale d'une ICD et d'une colonisation asymptomatique à *C. difficile* de 2,8% et 3% respectivement. L'acquisition nosocomiale de *C. difficile* est donc plus fréquente que ne l'est l'infection (13). A la différence de l'adulte en population générale, la colonisation asymptomatique chez les nourrissons et enfants de moins de deux ans est nettement plus fréquente et atteint des taux compris entre 20 à 70 %.

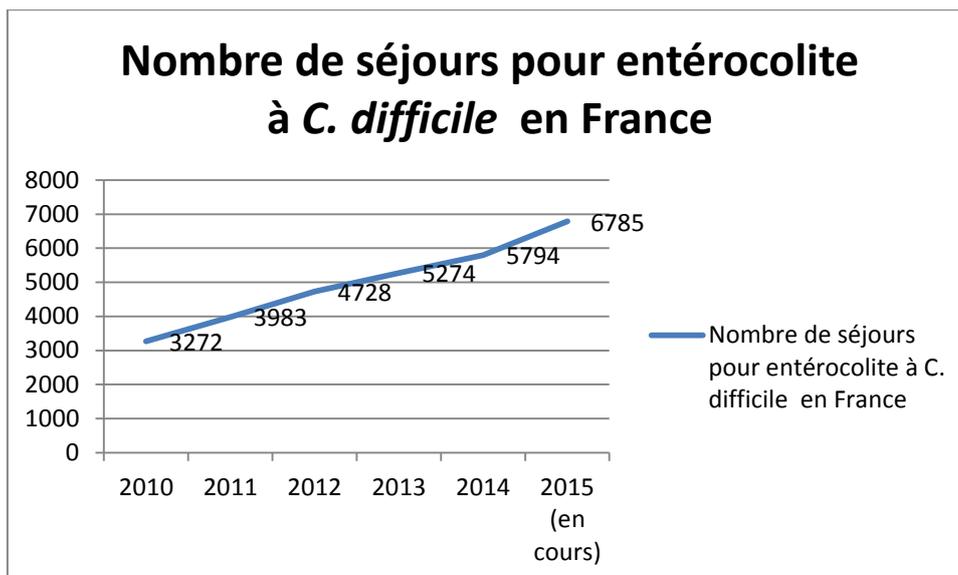
Ce portage asymptomatique chez l'adulte est très majoritairement le fait de souches non toxigènes mais exceptionnellement (< 1 %), les toxines de *C. difficile* peuvent être mises en évidence dans les selles de ces patients. En revanche, le portage asymptomatique de souches toxigènes est beaucoup plus fréquent chez le patient hospitalisé et chez le nourrisson (2).

Estimation du nombre de cas d'ICD en France

En France, l'incidence des ICD dans les établissements de santé est estimée entre 0,5 et 3 cas pour 10 000 patients-jours (14).

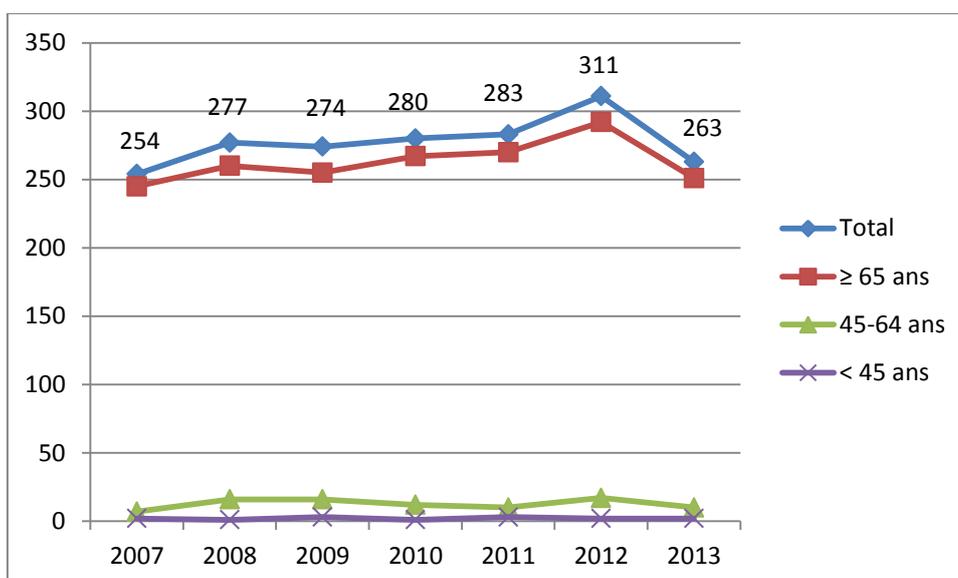
D'après la base nationale de données PMSI MCO constituée de l'agrégation des fichiers de RSA (résumé de sortie anonyme) transmis et validés par les établissements de santé ayant une activité d'hospitalisation en médecine, chirurgie, obstétrique (MCO), le nombre de séjours pour entérocolite à *C. difficile* a plus que doublé entre 2010 et 2015, passant de 3 300 à 6 800 environ. Ces données par année civile² sont présentées dans le graphique suivant :

² <http://www.scansante.fr/applications/statistiques-activite-MCO-par-diagnostique-et-actes>, consulté le 04/02/2016.



Données ScanSanté ; mention du diagnostic CIM10 A04.7, cause initiale

D'après les données du CépiDc³ (INSERM), le nombre de décès liés à une infection à *C. difficile* en France métropolitaine variait entre un minimum de 254 et un maximum de 311 par an sur la période 2007-2013 (voir graphique suivant).



Données Cépidc ; mention du diagnostic CIM10 A04.7, cause initiale

► Formes cliniques et facteurs de risques

Les ICD vont de la diarrhée simple sans retentissement sur l'état général à la colite fulminante pouvant aboutir à la perforation digestive et au décès du patient (2).

Étiologies

La conversion des spores en formes végétatives qui se multiplient et produisent les toxines A et B, survient habituellement à l'occasion d'une perturbation du microbiote intestinal par des antibio-

³ <http://www.cepidc.inserm.fr/cgi-bin/broker.exe>, consulté le 04/02/2016.

tiques (15). Les principaux facteurs de risque d'ICD sont ainsi l'administration d'antibiotiques (à l'exception des aminosides par voie parentérale) et un âge supérieur à 65 ans (> deux tiers des ICD). Les autres facteurs de risque potentiels sont certaines chimiothérapies, l'immunosuppression, les comorbidités, et des facteurs responsables d'une modification de l'écosystème digestif (laxatifs, lavement barytés, antiacides, ralentisseurs du transit, chirurgie gastro-intestinale) ou de la motilité intestinale (14).

Néanmoins, des cas d'ICD peuvent également survenir sans traitement antibiotique préalable (7). Il est également à noter l'existence de formes communautaires d'ICD.

Diarrhées simples

Dans les formes simples, la diarrhée est en général modérée (au moins trois selles non formées par jour, non glaireuses, non sanglantes). Une fièvre modérée est possible mais il n'y a pas d'altération marquée de l'état général. Les signes généraux sont souvent absents. L'examen endoscopique révèle une muqueuse normale ou érosive.

Formes compliquées

La colite pseudomembraneuse à *C. difficile* (CPM) est une pathologie grave de début brutal et est définie par (16) :

- une diarrhée profuse (> 7 selles/j) ;
- une fièvre dans 75 % des cas ;
- des douleurs abdominales dans 70 % des cas ;
- une hyperleucocytose (40 %), parfois majeure ;
- un syndrome inflammatoire ;
- une déshydratation extracellulaire ;
- une hypoalbuminémie liée à une entéropathie exsudative.

Le diagnostic de CPM est confirmé par endoscopie. Celle-ci objective des lésions caractéristiques en forme de plaques jaunâtres (pseudomembranes).

Les complications de la CPM peuvent être sévères, les plus à craindre étant un choc septique et un mégacôlon toxique (dilatation majeure du côlon) pouvant aboutir à une perforation nécessitant le recours à la chirurgie (colectomie) (17, 18).

► **Létalité**

La létalité de l'ICD varie de 0,6 à 1,5 %, mais atteint 35 à 50 % en cas de colite pseudomembraneuse (mégacôlon, perforation) (19, 20).

► **Récidives**

Les ICD sont caractérisées par un risque de rechute (récidive vraie ou réinfection) dans les deux mois pouvant atteindre 20 % malgré un traitement bien conduit. Après un deuxième épisode, le risque de troisième épisode est de 40 %. Il atteint 60 % après trois épisodes (21).

Dans 77 % des cas, les rechutes sont liées à la persistance de la souche initiale sous formes sporulées (récidive vraie), et pour les 23 % de cas restants, à l'acquisition d'une nouvelle souche (réinfection), le plus souvent au cours d'une hospitalisation (14).

► **Contamination**

La contamination par *C. difficile* a lieu par voie oro-fécale et la transmission de personne à personne s'effectue directement par manuportage ou à partir de l'environnement contaminé.

Les porteurs sains représentent un réservoir de bactéries et peuvent contribuer à leur dissémination dans l'environnement.

D'après le Haut conseil de la santé publique (9), la facilité d'acquisition de *C. difficile* en milieu hospitalier s'explique par :

- la très forte dissémination des souches dans l'environnement des patients ayant une ICD ;
- la résistance élevée et la persistance prolongée des spores de *C. difficile* sur des supports inertes, l'environnement constituant ainsi un réservoir très important ;
- la promiscuité des patients ;
- la pression de sélection par les antibiotiques, responsable d'une diminution de la résistance à la colonisation qui favorise l'acquisition et l'implantation de *C. difficile* ;
- le retard à la mise en place de mesures de prévention de sa dissémination.

► Prévention

L'avis du Haut conseil de la santé publique (9) préconise les mesures suivantes afin de prévenir :

- les ICD :
 - une prescription raisonnée d'antibiotique, qui contribue à la prévention primaire des ICD,
 - une réduction de prescription de certains antibiotiques (céphalosporines de 2^{ème} et 3^{ème} génération, clindamycine, macrolides, l'association amoxicilline + acide clavulanique, fluoroquinolones), qui est corrélée à la diminution de l'incidence des ICD ;
- la transmission croisée :
 - la réalisation du diagnostic rapidement,
 - un isolement géographique dans des chambres individuelles/regroupement des patients infectés dans le même secteur (levée 48-72h après la fin des symptômes),
 - des précautions « contact » (ne s'appliquant qu'aux patients symptomatiques),
 - le renforcement du port de gants,
 - le renforcement de l'hygiène des mains (seule l'action mécanique du lavage semble efficace pour éliminer la présence de la bactérie sporulée sur les mains des soignants),
 - la désinfection des locaux et surfaces avec de l'eau de javel (hypochlorite de sodium à 0,5 % de chlore actif) ; cette désinfection est spécifique de *C. difficile*.

► Traitement

Le traitement dépend de la sévérité de l'ICD. Lorsque les symptômes sont bénins, le retrait de l'antibiotique responsable conduit dans 25 % des cas à une guérison en deux à trois jours. Si les symptômes persistent, si l'arrêt de l'antibiotique inducteur n'est pas envisageable et pour les formes modérées, une antibiothérapie adaptée est prescrite (16). Pour les cas les plus sévères, un transfert en réanimation voire un traitement chirurgical est nécessaire.

Les recommandations publiées en 2014 par la Société européenne de microbiologie clinique et des maladies infectieuses (22) propose un schéma thérapeutique à plusieurs embranchements selon le cas d'ICD rencontré⁴.

► Diagnostic différentiel

Le diagnostic différentiel de l'ICD inclut les diarrhées d'origine médicamenteuse, osmotiques liées à la nutrition entérale, vasculaires dans le cadre des colites ischémiques ou encore infectieuses d'autres origines : *Shigella sp*, *Salmonella sp*, *E. coli*, rotavirus (17).

1.3 Stratégie diagnostique des infections à *Clostridium difficile*

Le diagnostic d'ICD repose sur la mise en évidence des toxines de *C. difficile*, soit directement (recherche de la protéine), soit par leur(s) gène(s) ou de la bactérie productrice de ces toxines. Pour détecter les toxines, on dispose du test de cytotoxicité ou du test immuno-enzymatique (ou EIA - *Enzyme Immunoassay*). Pour détecter les gènes, on dispose des TAANs, par PCR (*Polyme-*

⁴ Ce schéma thérapeutique est présenté en figure 1 des recommandations européennes (ESCMID) de 2014 (22).

rase Chain Reaction) ou par LAMP (*Loop-mediated isothermal amplification*). Pour détecter la bactérie, on dispose de la culture toxigénique ou de la détection de la glutamate déshydrogénase (GDH), enzyme produite par les souches toxigènes et non toxigènes de *C. difficile*. Ces différents tests sont présentés ci-dessous dans le chapitre 1.4.

D'après la recommandation de l'*American Society for Microbiology* de 2010 (23), plusieurs algorithmes diagnostiques des ICD, intégrant certains de ces tests, sont possibles (cf. Annexe 1) :

- un algorithme en trois étapes basé sur l'utilisation d'une méthode très sensible de dépistage (détection de la GDH) suivie, en cas de résultat positif, d'une méthode de confirmation plus spécifique mettant en évidence les toxines (test EIA de détection des toxines A et/ou B ou test de cytotoxicité) à laquelle se succède une 3^{ème} étape en cas de négativité consistant en la réalisation d'un TAAN ou d'une culture toxigénique ;
- un algorithme en deux étapes. Il s'agit en premier de combiner un test de détection de la GDH avec un test EIA de détection des toxines A et/ou B puis de réaliser un TAAN ou une culture toxigénique en cas de résultats discordants ;
- un algorithme qui consiste en l'utilisation d'un TAAN seul.

Une recommandation de 2014 du laboratoire associé au Centre national de référence des bactéries anaérobies et du botulisme (24) propose ces trois mêmes algorithmes diagnostiques ainsi qu'un quatrième qui consiste à réaliser un TAAN suivi d'un test EIA de détection des toxines A et/ou B ou d'un test de cytotoxicité des selles en cas de positivité.

Actuellement, la recherche de *C. difficile* ne fait pas partie de la coproculture standard et se fait sur prescription spécifique du clinicien (2). Or, selon les préconisations de l'*American Society for Microbiology* (ASM) de 2010 ou du HCSP de 2008, la recherche des toxines de *C. difficile* sur les selles diarrhéiques des patients hospitalisés depuis trois jours ou plus (au moins 48 h selon le HCSP) devrait être systématique.

1.4 Présentation des différents tests diagnostiques

Le test de cytotoxicité des selles

Ce test est considéré comme la méthode de référence de détection des toxines (2). Il consiste à étudier l'effet cytopathogène (ECP) d'un filtrat de selles - contenant possiblement les toxines - sur des cultures cellulaires sensibles à ces toxines. L'effet cytotoxique se manifeste par la dislocation du cytosquelette et la ballonnisation cellulaire. Cet effet est particulièrement rencontré avec la toxine B, 1 000 fois plus cytotoxique que la toxine A (17). Cette méthode est assez longue (24 à 48 h) et nécessite une infrastructure adaptée à la culture cellulaire. Elle est très spécifique (avec la possibilité de neutraliser l'ECP par un antisérum) mais se révèle peu sensible. En cas de positivité, elle signe la présence de la maladie.

La culture toxigénique

Elle consiste en une culture sur milieux sélectifs pour isoler les colonies de *C. difficile* puis la détection *in vitro* des toxines (6) :

- par observation d'un effet cytopathogène par le test de cytotoxicité décrit ci-dessus ;
- par un test immuno-enzymatique à partir d'une suspension de colonies ou d'un bouillon ; néanmoins, cette méthode ne serait pas validée ;
- par recherche des gènes codant pour les toxines A et B par TAAN directement à partir des colonies (mais dans ce cas, on met en évidence une séquence génétique et non la production de toxine).

La culture toxigénique nécessite également au minimum 48 h. Cette méthode peut être très sensible mais la sensibilité varie en fonction de la procédure de mise en culture utilisée. Son résultat doit être interprété en fonction de la clinique car cette technique est peu spécifique puisqu'elle

détecte aussi les souches non pathogènes des porteurs asymptomatiques. Cependant, elle permet l'isolement de la souche et ultérieurement son typage moléculaire.

La détection de la glutamate déshydrogénase (GDH) dans les selles

Il s'agit d'un test immuno-enzymatique ou immuno-chromatographique permettant de mettre en évidence dans les selles cette enzyme caractéristique de *C. difficile* mais produite aussi bien par les souches toxigènes que par les souches non toxigènes (2). Ce test est assez sensible mais peu spécifique car il ne permet donc pas de prédire le caractère toxigène de la souche et il existe en plus des réactions croisées avec d'autres bactéries anaérobies (*Clostridium bifermens*, *Clostridium sordellii*, etc.) ou non (*Staphylococcus aureus* *cowan 1*) productrices de cette enzyme.

En cas de positivité, ce test doit donc ensuite être couplé à la recherche de toxines pour s'assurer qu'il s'agit d'une souche pathogène.

La mise en évidence des toxines libres dans les selles

Elle se fait également à l'aide de tests immuno-enzymatiques (résultat obtenu en 30 minutes) qui permettent de détecter la toxine A ou les toxines A et B simultanément. Les tests détectant les toxines A et B simultanément sont recommandés afin de détecter les souches A-/B+ qui sont également responsables d'ICD (13). Ces tests sont décrits comme ayant globalement une bonne spécificité mais leur sensibilité est décrite comme insuffisante par dégradation des toxines dans les selles lors du transport/mauvaise conservation des selles, par production d'une faible quantité de toxines par *C. difficile* non détectable par le test.

Les avantages et inconvénients de ces méthodes de diagnostic des infections à *C. difficile* sont résumés dans le tableau présenté en Annexe 1.

1.4.1 Description des techniques d'amplification des acides nucléiques de *Clostridium difficile*

Les techniques d'amplification des acides nucléiques incluent le test de réaction en chaîne de la polymérase (PCR) en temps réel et l'amplification isotherme de l'ADN facilitée par boucle ou *Loop-mediated isothermal amplification* (LAMP).

La PCR

Parmi les techniques d'amplification des acides nucléiques de *C. difficile*, le test le plus couramment utilisé est la PCR en temps réel qui permet la détection qualitative d'ADN de *C. difficile*. Elle cible le plus souvent les gènes *tcdA/tcdB* (qui codent les toxines A et B) ou le gène *tcdC* (un régulateur répresseur de la production des toxines A et B).

Le test comporte deux étapes principales :

- une phase de dénaturation des échantillons de selles à 97 C ;
- suivie d'une phase d'amplification de l'ADN de *C. difficile*.

Selon les trousse commercialisées, les séquences ciblées sont (13) :

- une région conservée de *tcdB* (identification des souches A+/B+ et A-/B+) ;
- des fragments de gènes spécifiques de *C. difficile* et de ses toxines A et B (identification des souches A+/B+, A-/B+ et A+/B-) ;
- des gènes codant la toxine B, la toxine binaire ainsi que la délétion en position 117 sur le gène *tcdC*, marqueur présomptif de la souche 027 (identification des souches A+/B+, A-/B+ et A-/B- produisant la toxine binaire).

La technologie LAMP (Loop-mediated isothermal amplification)

Elle utilise la technique de l'amplification isotherme de l'ADN facilitée par boucle (formation de boucles d'auto-appariement à chaque extrémité du produit d'amplification). Cette technique a l'avantage d'être rapide et de ne pas recourir à un équipement coûteux ce qui pourrait faire de ce test une option attractive pour les laboratoires qui ne font pas de biologie moléculaire (13). Comme pour la PCR, en fonction des amorces choisies, le gène de la toxine A et/ou celui de la toxine B peuvent être détectés.

Avantages et désavantages théoriques

La détection de l'ADN des gènes des toxines de *C. difficile* ne permet pas d'écartier un portage asymptomatique de souches toxigènes ; cette situation pouvant amener à un risque de sur-diagnostic (25-27). À noter que le portage asymptomatique de souches toxigènes est rare en population générale (moins de 1 %) mais serait plus fréquent chez les patients hospitalisés (2).

Par ailleurs, le risque de résultats faussement négatifs d'un TAAN suite à l'évolution des souches est à craindre (mutations, délétions au niveau des cibles, souches non productrices des toxines A et B mais productrices de la toxine binaire, ...) et devra être surveillé (13).

Diffusion actuelle

D'après le directeur du Centre national de référence (CNR) des bactéries anaérobies et botulisme, plus de la moitié des laboratoires hospitaliers utilisent d'ores et déjà les TAANs.

1.5 Conditions actuelles de la prise en charge par l'Assurance maladie

Selon le demandeur, les TAANs et le test de détection de la glutamate déshydrogénase ne sont actuellement pas inscrits à la Nomenclature des actes de biologie médicale.

Le demandeur précise également que la NABM comporte actuellement, pour le diagnostic des infections à *C. difficile*, les actes suivants :

- 0215 : recherche d'une bactérie nommément désignée, bactérie anaérobie. Cet examen comprend :
 - ▶ l'examen microscopique d'orientation direct bactériologique, mycologique et parasitologique après colorations adaptées avec cytologie courante dans le cas d'une recherche isolée ;
 - ▶ les cultures d'isolement après enrichissement si nécessaire ;
 - ▶ l'identification biochimique du germe recherché et/ou antigénique lorsqu'elle est praticable ;
- 5292 : identification biochimique et/ou antigénique d'une bactérie ;
- 0237 : identification d'une toxine bactérienne par technique immunologique ;
- 5229 : cotation supplémentaire liée à une infection nosocomiale ; par patient, quel que soit le nombre de prélèvements et leur site, une seule cotation par jour. Cette cotation correspond à une tarification supplémentaire, s'ajoutant aux cotations prévues à la présente nomenclature, pour la conservation des souches microbiennes isolées jusqu'à la conclusion de l'enquête épidémiologique.

2. Méthode d'évaluation

Ce rapport est fondé sur :

- la réalisation d'une analyse critique de la littérature synthétique (recommandations de bonne pratique, rapports d'évaluation technologique, revues systématiques et méta-analyses) identifiée par une recherche documentaire systématique ;
- le recueil du point de vue des professions concernées par le sujet, *via* l'envoi d'un questionnaire aux différents organismes professionnels :
 - Collège de la médecine générale (CMG),
 - Conseil National Professionnel d'Hépatogastro-Entérologie (CNP-HGE),
 - Collège national professionnel de gériatrie (CNPG),
 - Société française d'hygiène hospitalière (SF2H),
 - Conseil national professionnel - Fédération française d'infectiologie (CNP-FFI),
 - Société française de biologie clinique (SFBC),
 - Unité d'hygiène et de lutte contre les infections nosocomiales (Hôpital Saint-Antoine, Paris) - laboratoire associé au Centre national de référence des bactéries anaérobies et du botulisme.

Les conclusions de l'argumentaire sont fondées sur l'ensemble des données ainsi recueillies.

2.1 Champ de l'évaluation

L'évaluation porte sur deux techniques de recherche de *C. difficile* dans des selles diarrhéiques : les tests d'amplification de l'acide nucléique (TAAN) et la détection de la glutamate déshydrogénase (GDH) pour diagnostiquer une ICD.

2.2 Recherche documentaire, sélection et analyse

2.2.1 Stratégie de recherche bibliographique et résultats

Conformément à la méthode d'évaluation retenue, seule la littérature synthétique (recommandations de bonne pratique, rapports d'évaluation technologique, revues systématiques et méta-analyses) a été recherchée. La recherche documentaire a été conduite de la manière suivante (cf. Annexe 3) :

Tableau 1. Stratégie de recherche bibliographique

Sources interrogées	<i>Medline</i>
Recherches complémentaires	Sites internet d'agences d'évaluation de technologies de santé ; sites Internet d'organismes professionnels français et étrangers ; références des publications identifiées
Période de recherche	Recherche du 01/01/2005 au 02/11/2015, veille documentaire mai 2016

Les équations de recherche, les mots clés utilisés et la liste des sites Internet consultés figurent en Annexe 3.

Cette recherche documentaire a permis d'identifier 69 recommandations de bonne pratique (RBP), 6 rapports d'évaluation technologique, 61 méta-analyses et revues systématiques et 21 autres documents (recherche initiale, veille, recherche complémentaire manuelle).

2.2.2 Critères de sélection

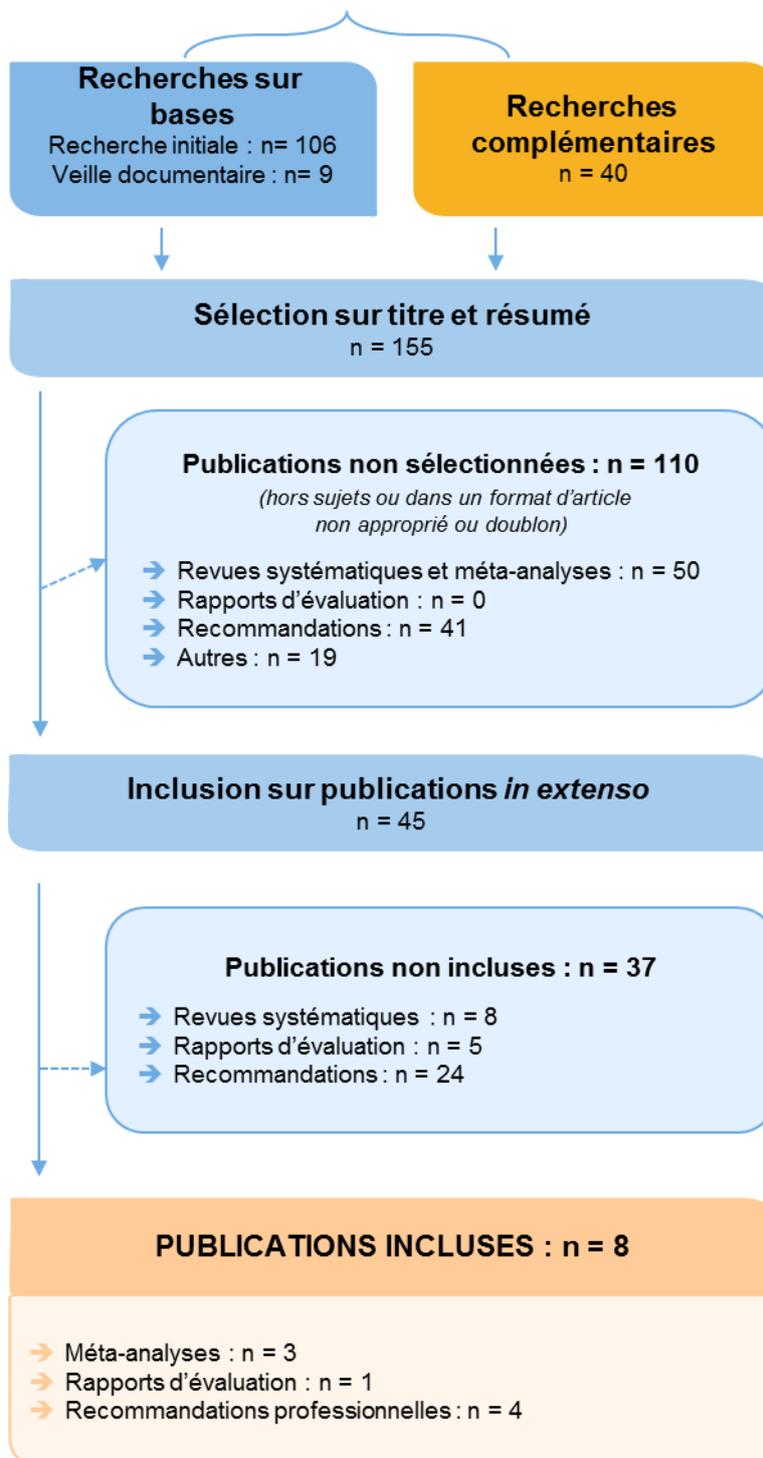
Une première sélection sur titre et résumé a permis d'écarter les documents sans lien avec le sujet. Ont ainsi été écartés 110 documents.

Sur les 45 documents restants, les documents ne traitant pas des techniques TAANs et/ou de la détection de la GDH et les RBP ne présentant pas de méthode d'élaboration ont été exclus. Cette seconde sélection a abouti *in fine* à retenir quatre RBP, un rapport d'évaluation technologique, et trois méta-analyses.

2.2.3 Sélection bibliographique

Les résultats de la recherche documentaire et du processus de sélection sont présentés dans le schéma ci-dessous.

Figure 1. Diagramme de sélection des références bibliographiques analysées



2.2.4 Méthode d'analyse de la littérature sélectionnée

L'ensemble de la littérature sélectionnée a fait l'objet d'une critique méthodologique. L'analyse critique s'est appuyée sur deux grilles internationales systématisées : la grille AMSTAR pour les méta-analyses (cf. Annexe 4) et la grille INAHTA pour les évaluations de technologies de santé⁵. La qualité méthodologique des recommandations a été analysée en s'appuyant sur des items adaptés du « Guide d'analyse de la littérature et gradation des recommandations » en ligne sur le site de la HAS⁶, et de la grille développée par le consortium AGREE⁷ (« grille AGREE II ») (cf. Annexe 4).

2.3 Recueil du point de vue des professionnels

2.3.1 Organismes professionnels consultés

Les professions sollicitées sont celles impliquées dans la réalisation ou la prescription de la détection de *C. difficile* (par TAAN ou détection de la GDH) pour le diagnostic d'une ICD. Leur point de vue a été recueilli *via* leurs conseils nationaux professionnels (CNP) ou *via* les sociétés savantes lorsque le CNP n'était pas constitué :

- Collège de la médecine générale (CMG) ;
- Conseil National Professionnel d'Hépatogastro-Entérologie (CNP-HGE) ;
- Collège national professionnel de gériatrie (CNPG) ;
- Société française d'hygiène hospitalière (SF2H) ;
- Conseil national professionnel - Fédération française d'infectiologie (CNP-FFI) ;
- Société française de biologie clinique (SFBC).

Le laboratoire *Clostridium difficile* associé au CNR des bactéries anaérobies et du botulisme a également été interrogé.

2.3.2 Modalité de consultation

Ces organismes ont été sollicités en tant que parties prenantes au sens du décret n°2013-413 du 21 mai 2013⁸, dans le cas présent comme groupes professionnels concernés en pratique par les conséquences de ce rapport, c'est-à-dire par la réalisation ou la prescription de ces deux actes de biologie médicale (TAAN et détection de la GDH). Ils devaient à ce titre représenter et exprimer l'intérêt général de leurs membres. Cette sollicitation a été menée conformément à la procédure de consultation des parties prenantes mise en place par la HAS⁹.

En pratique, le président de chacun des organismes concernés a été directement sollicité afin que le groupe professionnel qu'il représente exprime son point de vue argumenté. Il lui a été adressé à cette fin un questionnaire ouvert standardisé rédigé par la HAS ainsi qu'un exemplaire de travail du document de la HAS contenant une présentation du contexte et l'analyse bibliographique.

Cette sollicitation a été envoyée le 18 mai 2016. Les retours des parties prenantes ont eu lieu du 7 au 20 juin 2016.

Les points de vue émis par les CNP sont présentés *in extenso* en Annexe 5. Ces différents points de vue ont ensuite été synthétisés par la HAS dans la partie 3.2 de ce rapport.

⁵ http://www.inahta.org/wp-content/uploads/2014/04/INAHTA_HTA_Checklist_Fran%C3%A7ais.pdf

⁶ <http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/analiterat.pdf>

⁷ http://www.agreerust.org/wp-content/uploads/2013/10/AGREE-II-Users-Manual-and-23-item-Instrument_2009_UPDATE_2013.pdf

⁸ Décret n°2013-413 du 21 mai 2013. Le quatrième alinéa de ce décret dispose que : « La décision peut s'appuyer, si l'objet de l'expertise le justifie, sur la prise en compte des points de vue des « parties prenantes » (ou « parties intéressées »), c'est-à-dire des personnes ou groupes concernés ou susceptibles de l'être, directement ou indirectement, par les conséquences de cette décision, notamment des milieux associatifs et des acteurs économiques ou professionnels, ou qui représentent l'intérêt général de groupes concernés par ces conséquences. ».

<http://legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000027434015&categorieLien=id>

⁹ Procédure de consultation des parties prenantes de la HAS, juin 2014.

3. Résultats de l'évaluation

3.1 Analyse de la littérature

Suite à la recherche bibliographique synthétique et à la sélection de la littérature ainsi identifiée, trois méta-analyses, un rapport d'évaluation technologique et quatre recommandations de bonne pratique ont été analysées.

3.1.1 Analyse des méta-analyses

► Présentation

Les trois méta-analyses (cf. Tableau 2) s'intéressent aux TAANs :

- une méta-analyse de 2011 incluant 19 études traite de la précision diagnostique de la PCR en temps réel dans le diagnostic de *C. difficile* (28) ;
- une méta-analyse de 2012 élargit son champ aux techniques LAMP (25 études pour la PCR et 6 études pour les techniques LAMP incluses) (29) ;
- une méta-analyse de 2015 (30) porte uniquement sur l'évaluation des techniques LAMP (9 études incluses).

Ces méta-analyses n'ont pas évalué le test de détection de la GDH.

► Qualité méthodologique

Ces méta-analyses ont inclus des études dont les patients peuvent ne pas correspondre à la population cible de ces tests diagnostiques (par exemple, âge inférieur à deux ans, faible suspicion d'ICD, test de routine, etc.). Ces études incluses sont donc exposées à un fort risque de biais de sélection des patients. De plus, ces études présentent une forte hétérogénéité entre elles (en taille, en nombre de kit de PCR évalués, etc.) et avaient deux comparateurs (le test de cytotoxicité et la culture toxigénique). Aucune analyse d'ajustement sur les facteurs de confusions potentiels n'a été réalisée. Bien que des analyses de sensibilité aient été réalisées, il aurait été souhaitable de procéder également par stratification/exclusion des études à plus fort risque de biais. Une méta-analyse (29) ne précise pas si les études sélectionnées avaient au moins, pour chaque patient, réalisé les deux tests (PCR ou LAMP, et un comparateur) sur le même échantillon de selles.

Le manque de renseignement sur la population incluse dans les études analysées et la forte hétérogénéité des études entre elles rendent difficile l'interprétation des résultats.

► Résultats et conclusion des auteurs

Les résultats des deux méta-analyses (28, 29) ayant étudié la PCR montrent, comparativement au test de cytotoxicité et/ou à la culture toxigénique, une sensibilité de cette technique comprise entre 0,87 et 0,92 ainsi qu'une spécificité comprise entre 0,94 et 0,97.

La technique LAMP évaluée également dans deux méta-analyses (29, 30) montre une sensibilité comprise entre 0,92 et 0,93 et une spécificité comprise entre 0,97 et 0,98.

Ces résultats montrent une spécificité des TAANs très proche des tests de référence, ce qui est satisfaisant compte tenu de la bonne spécificité de ces tests (voir Contexte). Par contre, la sensibilité des TAANs se situe autour de 0,9 *versus* les tests de référence, alors que le test de cytotoxicité est réputé peu sensible (voir Contexte).

Quant aux conclusions des auteurs, elles sont les suivantes :

- pour les auteurs de la méta-analyse la plus ancienne (28) : « *Malgré ces limites, la PCR est un des meilleurs tests disponible pour le diagnostic rapide des ICD. [...] La précision globale du test est variable et dépend de la prévalence de l'ICD* » ;

- pour la méta-analyse ayant évalué la PCR et la technique LAMP : « *La PCR est un test prometteur pour le diagnostic des ICD. Nous recommandons de préférer la PCR pour diagnostiquer les ICD et davantage d'investigations pour la technique LAMP comme outil de diagnostic moléculaire alternatif. Des études complémentaires sont nécessaires pour clarifier le rôle de la PCR dans la détection de colonisations asymptomatiques [...]* » ;
- pour la méta-analyse la plus récente (30) : « *la technique LAMP semble être un test prometteur selon les données actuelles [...]* ».

Tableau 2. Présentation des méta-analyses analysées

Références	Deshpande <i>et al.</i> , 2011 (28)	O'Horo <i>et al.</i> , 2012 (29)	Wei <i>et al.</i> , 2015 (30)
Nombre d'études incluses dans la méta-analyse	PCR : 19 études.	PCR : 25 études ; LAMP : 6 études.	LAMP : 9 études.
Nombre total d'échantillons inclus dans la méta-analyse	7 392 échantillons.	PCR : 11 801 échantillons (de sujets > 2 ans) LAMP : 1 685.	LAMP : 3 621 échantillons.
Objectifs de la méta-analyse	Evaluer la précision diagnostique de la PCR en temps réel.	Evaluer l'utilité de deux techniques moléculaires de diagnostic rapide (PCR et LAMP) dans les ICD.	Evaluer la précision diagnostique de la technique LAMP dans la détection de <i>C. difficile</i> dans des échantillons de selles.
Tests évalués	PCR : Bd Gene-Ohm, Cepheid Xpert, Prodesse, Applied Biosystems, PCR "maison."	PCR : Bd Gene-Ohm, Cepheid Xpert, LightCycler, Progastro, PCR "maison" et LAMP.	LAMP.
Test de référence	Test de cytotoxicité et/ou culture toxigénique.	Test de cytotoxicité et/ou culture toxigénique.	Test de cytotoxicité et/ou culture toxigénique.
Type de patients inclus dans la méta-analyse	Patients à risque d'ICD.	Adultes, enfants avec un diagnostic ou une suspicion d'ICD.	Patients avec diagnostic ou suspectés ¹⁰ d'ICD.
Type d'études incluses (ECR ¹¹ , ...) dans la méta-analyse	NR.	Essais cliniques.	Essais cliniques.
Analyse critique des études originales par les auteurs	Critères QUADAS.	STARD (<i>Standards for reporting of diagnostic accuracy</i>).	Critères QUADAS.

¹⁰ Avec un diagnostic ou une suspicion d'ICD¹¹ Essai contrôlé randomisé

Références	Deshpande <i>et al.</i> , 2011 (28)	O'Horo <i>et al.</i> , 2012 (29)	Wei <i>et al.</i> , 2015 (30)
Critères d'évaluation en vue de la méta-analyse	Sensibilité, spécificité, VPP ¹² , VPN ¹³ , prévalence, ratio de vraisemblance positif, ratio de vraisemblance négatif, OR de diagnostic.	Sensibilité, spécificité, VPP, VPN, prévalence, ratio de vraisemblance positif, ratio de vraisemblance négatif, OR de diagnostic.	Sensibilité, spécificité, ratio de vraisemblance positif, ratio de vraisemblance négatif, OR de diagnostic.
Résultats des méta-analyses	<p>PCR :</p> <ul style="list-style-type: none"> Sensibilité=0,90 [0,88-0,91] ; Spécificité=0,96 [0,96-0,97]. <p>Réf=culture toxigénique (8 études, 4 833 échantillons) :</p> <ul style="list-style-type: none"> Sensibilité=0,90 [0,88-0,92] ; Spécificité=0,96 [0,95-0,96]. <p>Réf=test de cytotoxicité (15 études, 4 098 échantillons) :</p> <ul style="list-style-type: none"> Sensibilité=0,89 [0,87-0,92] ; Spécificité=0,97 [0,96-0,97]. <p>Hétérogénéité : $I^2 > 50$ %.</p> <p><u>Analyses en sous-groupes :</u> VPP augmente avec augmentation de la prévalence :</p> <ul style="list-style-type: none"> <10 % : 71 % [64 %-77 %] ; 10-20 % : 79 % [77 %-82 %] ; >20 % : 93 % [89 %-96 %] ; VPN stable selon la prévalence : comprise entre 99 % et 96 %. 	<p>PCR :</p> <p>Réf= culture toxigénique :</p> <ul style="list-style-type: none"> Sensibilité=0,92 [0,91-0,94] ($I^2=77,9$ %) ; Spécificité=0,94 [0,94-0,95] ($I^2=93,4$ %) ; DOR=378 [260-547] ($I^2=37,3$ %). <p>Réf=test de cytotoxicité :</p> <ul style="list-style-type: none"> Sensibilité=0,87 [0,84-0,90] ($I^2=76,1$ %) ; Spécificité=0,97 [0,97 -0,98] ($I^2=79,9$ %) ; DOR=370 [226-606] ($I^2=18$ %). <p>LAMP :</p> <ul style="list-style-type: none"> Sensibilité=0,92 [0,88-0,95] ($I^2=44,3$ %) ; Spécificité=0,97 [0,96-0,98] ($I^2=87,4$ %). <p>VPP : représentation graphique de sa variation selon la prévalence (<70 % pour des prévalences autour de 2 % à ~95 % pour des prévalences de 20 %). Egalement variable selon les kits de PCR utilisés.</p>	<p>Sensibilité=0,93 [0,91-0,95] ($I^2=68,8$ %). Spécificité=0,98 [0,98-0,99] ($I^2=91,0$ %). DOR=745,19 [229,3-2421,72] ($I^2=79,7$ %).</p> <p><u>Analyses en sous-groupes :</u> Etudes incluant un nombre d'échantillons ≥ 200 :</p> <ul style="list-style-type: none"> Sensibilité=0,95 [0,93-0,97] ($I^2=23,4$ %); Spécificité=0,99 [0,98-0,99] ($I^2=91,8$ %); DOR=1106,67 [285,86-4284,33] ($I^2=80,2$ %).

¹² Valeur prédictive positive

¹³ Valeur prédictive négative

Références	Deshpande <i>et al.</i> , 2011 (28)	O'Horo <i>et al.</i> , 2012 (29)	Wei <i>et al.</i> , 2015 (30)
Grille AMSTAR	Faible.	Faible.	Faible.
Remarques des auteurs	Qualité des études évaluées par l'outil QUADAS généralement élevée. Forte hétérogénéité des études entre elles Pas d'ajustement sur certains facteurs de confusion potentiels.	Hétérogénéité de design des études analysées. Manque une spécification des critères cliniques pour soumettre les échantillons à la PCR.	Hétérogénéité des études entre elles que partiellement prise en compte par le modèle à effets aléatoires. Pas d'ajustement sur certains facteurs de confusion potentiels.

Références	Deshpande <i>et al.</i> , 2011 (28)	O'Horo <i>et al.</i> , 2012 (29)	Wei <i>et al.</i> , 2015 (30)
Conclusion des auteurs	Malgré ces limites, la PCR est un des meilleurs tests disponible pour le diagnostic rapide des ICD. Il n'a pas été détecté de différences significatives pour la sensibilité et la spécificité selon le test de référence utilisé. La PCR en temps réel a une sensibilité et une spécificité élevées dans la confirmation d'une ICD. La précision globale du test est variable et dépend de la prévalence de l'ICD.	La PCR est un test prometteur pour le diagnostic des ICD avec sensibilité, spécificité, VPP, VPN élevées. Nous recommandons de préférer la PCR pour diagnostiquer les ICD, des études complémentaires pour la technique LAMP et la clarification du rôle de la PCR dans la détection de colonisations asymptomatiques.	Malgré ces limites, la technique LAMP semble être un test prometteur selon les données actuelles. La technique LAMP répond aux caractéristiques minimums désirables d'un test diagnostic en terme de sensibilité, spécificité, coût-efficacité, résultats rapides, facilité d'utilisation par un utilisateur non-expert, et convient comme test de diagnostic utilisé seul, rapide, efficace et fiable pour être d'une utilisation utile pour des laboratoires cliniques pour le diagnostic des ICD, diminuant potentiellement la morbidité et les infections nosocomiales.
Remarques et analyse critique des méta-analyses (HAS)	<p>Design des études NR.</p> <p>Prévalence variable selon les études comprise entre 3 % et 52 %.</p> <p>Manque la description de la population dans les critères de sélection des études (notamment sur l'âge et la description de suspicion d'ICD) et les études incluant des patients de moins de deux ans ne sont pas exclues.</p> <p>Inclusion d'échantillons pour un screening et non à but diagnostic.</p> <p>Stratifications uniquement sur test de référence et prévalence.</p> <p>Différents kits de PCR utilisés dont 10 études évaluant une PCR non approuvée par la FDA.</p> <p>Gène(s) cible(s) renseigné(s).</p>	<p>Risque de biais de sélection des patients (indication non renseignée ou sans suspicion d'ICD dans un certain nombre d'études incluses et population de patients NR dans 21 études).</p> <p>Etudes incluses ne renseignant pas l'amorce de PCR utilisée.</p> <p>Prévalence variable selon les études comprise entre 6 % et 37 %.</p> <p>Auraient dû réaliser des analyses de sensibilité (par niveau de risque de biais de sélection de la population sur la probabilité de l'ICD par exemple).</p> <p>Différents kits de PCR utilisés et PCR « maison ».</p> <p>Infections communautaires ou nosocomiales NR (différence de prévalence).</p> <p>Gène(s) cible(s) non renseigné(s).</p> <p>La VPP peut être très faible selon le kit de PCR utilisé pour de faibles prévalences.</p>	<p>Prévalence très variable selon les études comprise entre 7,5 % et 62,7 %.</p> <p>Dans les critères de sélection des études, les études incluant des patients de moins de deux ans ne sont pas exclues.</p> <p>Analyses en sous-groupes sur tests de référence, prévalence (<20 % - ≥20 %), nombre d'échantillons (<200 - ≥200).</p> <p>Ne renseignent pas les VPP et VPN.</p>

Tableau 3. Grille d'évaluation AMSTAR : méta-analyses

Questions	Deshpande <i>et al.</i> , 2011 (28)	O'Horo <i>et al.</i> , 2012 (29)	Wei <i>et al.</i> , 2015 (30)
A-t-on fourni un plan « <i>a priori</i> » ?	Oui	Oui	Oui
Existait-il un double moyen de choisir le sujet d'analyse et d'extraire les données ?	Oui (2 investigateurs).	Partiellement (sélection des études par tous les auteurs, extraction des données NR).	Oui (2 investigateurs).
A-t-on effectué une recherche complète dans la littérature ?	Oui (5 bases de données interrogées + interrogation experts pour recherche littérature grise).	Oui (11 bases de données interrogées + recherche manuelle).	Oui (6 bases de données interrogées).
La nature d'une publication (exemple : littérature grise) a-t-elle servi de critère d'inclusion ?	Non	Oui (essais cliniques).	Oui (en tant que critère d'exclusion).
Liste des études incluses et des études exclues.	Non	Non	Oui
Les auteurs ont-ils fourni une description des caractéristiques des études incluses ?	Oui (hormis la population incluse : âge des patients).	Oui	Oui (hormis la population incluse : âge des patients).
La qualité scientifique des études incluses dans l'examen a-t-elle été analysée et documentée ?	Oui (documentée de façon globale sous forme d'un graphe).	Non	Oui
La qualité scientifique des études incluses a-t-elle été utilisée de façon appropriée dans la formulation des conclusions ?	Ne peut répondre, la population des études incluses étant peu décrite.	Ne peut répondre, la qualité des études scientifiques et la population des études incluses étant peu décrites.	Non (pas de VPP et VPN pour conclure à utilisation du test en pratique clinique).
Les méthodes de groupement des résultats des études étaient-elles appropriées ?	Partiellement (modèle à effet aléatoire et stratifications (sur test de référence et prévalence) mais non prise en compte des facteurs de confusion potentiels).	Partiellement (modèle à effet aléatoire et stratification sur le test de référence mais manque des analyses de sensibilité).	Partiellement (modèle à effet aléatoire et stratifications (sur test de référence, prévalence et taille étude) mais non prise en compte des facteurs de confusion potentiels).

Questions	Deshpande <i>et al.</i> , 2011 (28)	O'Horo <i>et al.</i> , 2012 (29)	Wei <i>et al.</i> , 2015 (30)
A-t-on analysé la possibilité d'un biais de publication ?	Non	Non	Oui
A-t-on déclaré les conflits d'intérêts ?	Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflits d'intérêts.	NR	Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflits d'intérêts.
Qualité méthodologique globale	Faible	Faible	Faible

3.1.2 Analyse du rapport d'évaluation technologique

► Présentation

L'objectif de cette évaluation technologique publiée en 2011 par l'*Agency for Healthcare Research and Quality* des États-Unis (31) est de conduire une revue systématique et de synthétiser les preuves pour comparer la fiabilité des tests diagnostiques et les effets des interventions pour prévenir et traiter une ICD chez les patients adultes. Concernant le diagnostic, il s'agit d'évaluer l'apport de différentes méthodes de détection de *C. difficile* toxinogène au diagnostic d'ICD en comparant leurs performances. Treize études comparatives ont été incluses mais seulement quatre études concernent les méthodes de détection du gène *tcdB* de la toxine B produite par *C. difficile*. Les neuf autres études comparaient les critères de performance diagnostique entre différents tests EIA de détection des toxines A et B. Pour ces treize études, le comparateur devait être le test de cytotoxicité et/ou la culture toxigénique. Les auteurs ont évalué la qualité méthodologique des études à l'aide des critères de la grille QUADAS.

Le test de détection de la GDH n'a pas été évalué dans ce rapport HTA.

► Qualité méthodologique

Les auteurs renseignent un faible niveau de preuve pour les résultats de sensibilité et de spécificité (excepté pour les résultats de comparaison de spécificité d'une étude jugés de niveau de preuve modéré). La plupart des items de la grille d'évaluation INAHTA (cf. Annexe 4) ont été suivis par les auteurs de ce rapport (cf. Tableau 5). Cependant, les limites méthodologiques des études n'ont pas été commentées de façon individuelle mais globale, ne permettant pas d'avoir une idée précise dans le texte des critiques portant sur les quatre études évaluant les tests de détection des gènes. Un tableau en annexe de ce rapport d'HTA complète l'argumentaire et précise le manque d'informations contenues dans les études incluses sur les patients (nombre, âge, prise d'antibiotiques, ...) et le mode de conservation des échantillons.

Le manque de renseignements sur la population incluse dans les études analysées et l'utilisation de deux comparateurs conduisent à un risque de forte hétérogénéité des études entre elles rendant difficile l'interprétation des résultats.

► Résultats et conclusions

La sensibilité et la spécificité des tests de détection de *tcdB* (GeneOhm et GeneXpert, Cepheid) ont été estimées entre 89 et 100 % et entre 96 et 100 % respectivement, comparé au test de cytotoxicité et/ou à la culture toxigénique.

Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par les trois méta-analyses analysées précédemment avec une spécificité des TAANs très proches de celle des tests de référence, et une sensibilité pouvant être inférieure.

Par ailleurs, les résultats de ce rapport suggèrent une meilleure sensibilité des TAANs comparativement aux tests EIA de détection des toxines A et B.

Les auteurs ne se prononcent pas sur la place de la PCR dans la stratégie diagnostique des infections à *C. difficile*. Ils concluent que « *Les tests de détection des gènes pourraient être substantiellement plus sensibles que plusieurs tests EIA de détection des toxines, sans ou avec une modeste perte de spécificité* ».

Tableau 4. Présentation de l'HTA

Auteur, année, référence, pays	<i>Effectiveness of early diagnosis, prevention, and treatment of Clostridium difficile infection, Agency for Healthcare Research and Quality, décembre 2011 (31)</i>
Type	Revue basée sur les preuves (recherche systématique de la littérature : plusieurs bases de données + recherche manuelle + consultation d'experts cliniques).
Objectifs	Conduire une revue systématique et synthétiser les preuves pour comparer la fiabilité des tests diagnostiques et les effets des interventions pour prévenir et traiter une ICD chez les patients adultes.
Sélection littérature	2 lecteurs indépendants pour sélection des articles et extraction des données.
Critères d'inclusion	Études en anglais et sur l'humain, selles provenant de patients adultes suspectés d'avoir une ICD, études qui comparent au moins deux tests diagnostiques dans le même laboratoire utilisant les mêmes échantillons de selles et utilisant les mêmes tests de référence, test EIA de détection des toxines A et B de <i>C. difficile</i> et tests de détection des gènes des toxines de <i>C. difficile</i> .
Critères d'exclusion	Études évaluant des tests non commercialisés aux USA, comparaison directe sans test de référence.
Comparateur	Test de cytotoxicité et/ou culture toxigénique.
Nombre d'études incluses	13 études comparatives pour la partie diagnostique, mais seulement 4 études pour les tests de détection du gène <i>tcdB</i> de la toxine B.
Critères de jugement	Sensibilité et spécificité des tests, courbes ROC, rapports de vraisemblance.
Résultats	<p>Test de détection du gène <i>tcdB</i> de la toxine B vs test EIA de détection des toxines (4 études, 9 comparaisons directes) :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Tests de détection de <i>tcdB</i> : GeneOhm, Becton Dickinson ; GeneXpety, Cepheid : sensibilité des comprise entre 89 % et 100 % ; spécificité comprise entre 96,3 % et 100 % • Tests EIA de détection des toxines A et B : Premier Toxin A&B, Meridian ; Tox A/B II, TechLab ; Tox A/B QUIK CHEK, TechLab ; ImmunoCard A&B, Meridian ; Xpect Toxin A/B, Remel ; ProSpecT Toxin A/B, Remel ; C. diff Tox A/B, VIDAS : sensibilité comprise entre 44,4 % et 86 % ; spécificité comprise entre 94,7 % et 100 % <p>Les résultats montrent une tendance à une meilleure sensibilité des tests de détection de <i>tcdB</i> comparé aux tests EIA de détection des toxines A et B (différences estimées : 17 % [3 %-37 %] ; 25 % [-36 %-86 %] et entre 3 % à 56 % avec des intervalles de confiance n'excluant pas une différence nulle).</p> <p>Pas d'hétérogénéité pour les différences d'estimation de % de faux positifs entre les tests : 0 % [1 %-1 %] ; 2 % [-1 %-5 %] ; 3 %.</p>
Analyse critique des auteurs	<p>D'après les auteurs, bonne validité interne des études sélectionnées (selon les critères QADAS).</p> <p>Les informations reportées sur les patients sont insuffisantes dans les études : critères de sélection des patients/description des selles mal ou non renseignés dans certaines études.</p> <p>Selon les auteurs, le niveau de preuve est faible pour supporter la notion d'une meilleure sensibilité des tests de détection des gènes comparé aux tests EIA de détection des toxines A et B.</p> <p>Manque de comparaisons entre les tests.</p> <p>Hétérogénéité.</p> <p>L'impact des différences de sensibilité et spécificité sur la décision du clinicien n'est pas connue.</p> <p>L'influence des caractéristiques des patients et des selles sur la sensibilité et spécificité du</p>

Auteur, année, référence, pays	<i>Effectiveness of early diagnosis, prevention, and treatment of Clostridium difficile infection, Agency for Healthcare Research and Quality, décembre 2011 (31)</i>
	test n'est pas connue. Absence d'aveugle pour la comparaison des tests.
Conclusions	Les tests de détection des gènes pourraient être substantiellement plus sensibles que plusieurs tests EIA de détection des toxines, sans ou avec une modeste perte de spécificité.
Remarques de la HAS	<p>Pas de PICO.</p> <p>Nature de la diarrhée et prise d'antibiotiques non décrites dans la plupart des études.</p> <p>Pas de définition précise d'une suspicion d'ICD dans les critères de sélection des patients.</p> <p>Une étude inclut uniquement des patients de plus de 65 ans.</p> <p>Age des patients NR dans 3 études.</p> <p>Inclusion d'enfants de moins de deux ans NR dans 2 études.</p> <p>Inclusion de plus de 1 échantillon par patient dans au moins 1 étude.</p> <p>Inclusion d'une étude ayant sélectionnée des patients avec ICD (sélection sur un autre test de diagnostic positif).</p> <p>Seulement 1 étude a testé les échantillons en aveugle.</p> <p>Possible exclusion des résultats non concordants pour certaines études.</p> <p>Nombre de patients NR dans 2 études.</p> <p>Nombre inconnu d'échantillons congelés dans 1 étude.</p> <p>Fraîcheur des échantillons NR dans 1 étude.</p>

Tableau 5. Grilles INAHTA

Étude	<i>Effectiveness of early diagnosis, prevention, and treatment of Clostridium difficile infection, Agency for Healthcare Research and Quality, décembre 2011 (31)</i>			
	Élément	Oui	Partiellement	Non
Préliminaires				
1. Présence de coordonnées permettant d'obtenir des informations complémentaires ?	×			
2. Identification des auteurs ?	×			
3. Déclaration sur les conflits d'intérêts ?	×			
4. Indication d'une validation externe du rapport ?				×
5. Bref résumé en langage non technique ?	×			

Étude		<i>Effectiveness of early diagnosis, prevention, and treatment of Clostridium difficile infection, Agency for Healthcare Research and Quality, décembre 2011 (31)</i>	
Pourquoi ?			
6. Question posée et contexte de l'évaluation ?	×		
7. Indication du champ de l'évaluation ?	×		
8. Description de la technologie de santé évaluée ?	×		
Comment ?			
9. Détails sur les sources d'information ?	×		
10. Informations sur le choix des éléments d'évaluation ?	×		
11. Informations sur l'interprétation des données recueillies ?		×	(l'argumentaire sur la qualité des études ne donne pas les références des études critiquées)
Quoi ?			
12. Présentation des résultats de l'évaluation ?	×		
13. Interprétation des résultats de l'évaluation ?	×		
Implications			
14. Présentation des conclusions de l'évaluation ?	×		
15. Énoncé des conséquences médico-légales ?			×
16. Énoncé clair des conclusions de l'évaluation ?	×		
17. Suggestions d'actions complémentaires ?	×		

3.1.3 Analyse des recommandations de bonne pratique (RBP)

► Présentation

Les quatre RBP sélectionnées abordent la stratégie diagnostique des ICD :

- une de la *Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA)* et de l'*Infectious Diseases Society of America (IDSA)* de 2010, intitulée *Clinical practice Guidelines for Clostridium difficile Infection in Adults : 2010 Uptade* (32) ;
- une du *National Health Service* de 2012, intitulée *Updated Guidance on the diagnosis and reporting of Clostridium difficile* (33) ;
- une de l'*University of Washington School of Medicine* de 2013, intitulée *Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of Clostridium difficile infections* (7) ;
- une du *National Clinical Effectiveness Committee* de 2014, intitulée *Surveillance, Diagnosis and Management of Clostridium difficile Infection in Ireland* (34).

La recherche de la GDH par technique EIA et les TAANs sont considérés dans chacune des recommandations sélectionnées.

La population susceptible de présenter une ICD et chez laquelle une recherche de *C. difficile* doit être effectuée est plus ou moins bien renseignée selon les recommandations.

Le mode de conservation des selles pour la recherche des toxines produites par *C. difficile* n'est explicité que dans une seule recommandation (34).

Les recommandations des auteurs sont reportées dans le Tableau 6.

► Qualité méthodologique

Seulement deux recommandations ont effectué une recherche systématique de la littérature et documentent la période de recherche (32, 34). Les recommandations du NHS sont une mise à jour de recommandations antérieures (35) basées uniquement sur les données d'une étude diagnostique observationnelle multicentrique (réalisée au sein de quatre laboratoires du NHS) (33). Cette recommandation n'est pas gradée et le niveau de preuve scientifique n'est pas non plus renseigné.

Deux recommandations manquent de précisions concernant leur méthode d'élaboration (7, 33).

Deux recommandations ne présentent pas d'algorithme de stratégie diagnostique (7, 32).

L'analyse de la qualité des recommandations évaluées selon la grille AGREE II (cf. Annexe 4) figurent dans le Tableau 6.

► Contenu des recommandations concernant la stratégie diagnostique des infections à *Clostridium difficile*

Population cible

Deux recommandations (7, 32) décrivent peu la population cible pour laquelle la présence de *C. difficile* doit être recherchée en ne précisant qu'une réalisation des tests sur des selles diarrhéiques. Cette population cible est relativement bien décrite dans les deux autres recommandations (33, 34), comme indiqué dans le Tableau 6. De manière synthétique, il s'agit de rechercher *C. difficile* sur des selles diarrhéiques de patients de plus de deux ans hospitalisés, ainsi que sur les diarrhées communautaires de patients de plus de 65 ans et de patients de moins de 65 ans si cela est cliniquement indiqué. Deux recommandations (32, 34) précisent qu'il n'est pas pertinent de rechercher *C. difficile* pour suivre l'effet du traitement ou en fin d'hospitalisation.

Détection de la glutamate déshydrogénase (GDH) par test EIA

Ce test est présenté comme pouvant être utilisé comme premier test sur des selles diarrhéiques dans les quatre recommandations analysées. En cas de positivité, une deuxième étape de confirmation par un autre test au choix parmi plusieurs est nécessaire. Néanmoins, cette stratégie de

diagnostic est présentée comme « provisoire¹⁴ » dans la recommandation analysée la plus ancienne (32) et son niveau de force de recommandation n'est pas gradé dans deux recommandations (33, 34). Une recommandation (7) estime que cette stratégie à deux (GDH puis test EIA de détection des toxines A et B) ou trois étapes (troisième étape non décrite) a une sensibilité inférieure à une stratégie utilisant seulement les TAANs (force de recommandation : forte et niveau de preuve : modéré).

Techniques de biologie moléculaire TAANs

Concernant les techniques TAANs, les quatre recommandations analysées ne sont pas consensuelles et varient en fonction de leur date de publication :

- la recommandation la plus ancienne (32) de 2010 ne recommande pas la PCR en routine par manque de données ;
- la recommandation de 2012 (33) propose l'utilisation des TAANs comme test de screening dans une stratégie diagnostique à deux étapes : TAAN suivi d'un test de détection des toxines A et B seulement en cas de positivité du TAAN, sans toutefois grader la force de cette recommandation ;
- la recommandation de 2013 (7) indique la supériorité des TAANs utilisés seuls vis-à-vis des autres stratégies diagnostiques utilisant le test EIA de détection des toxines A et B, ou le test de détection de la GDH suivi d'un test de détection des toxines A et B, mais les auteurs ne proposent pas d'algorithme de stratégie diagnostique pour leur utilisation ;
- dans la dernière recommandation parue en 2014 (34), les TAANs peuvent être utilisés soit seuls, soit comme test de screening ou bien comme test de confirmation à un 2^{ème} ou 3^{ème} niveau dans les différents algorithmes de stratégies diagnostiques proposés de même niveau de preuve (grade B : basé sur un essai contrôlé non randomisé, une étude quasi-expérimentale ou extrapolée d'un essai contrôlé randomisé).

¹⁴ Les auteurs indiquant qu'il est nécessaire de disposer de davantage de données sur la sensibilité du test de détection de la GDH.

Tableau 6. Présentation des recommandations analysées

Champ	Qualité méthodologique du document	Conclusions principales des auteurs	Commentaires HAS
<i>Clinical practice Guidelines for Clostridium difficile Infection in Adults : 2010 Uptade by the Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) and the Infectious Diseases Society of America (IDSA), mai 2010 (32)</i>			
<p>Améliorer le diagnostic et la prise en charge des ICD chez l'adulte : quelle est la meilleure stratégie pour diagnostiquer une ICD dans un laboratoire clinique et quelles sont les options acceptables ?</p>	<p>Méthode d'élaboration des recommandations : Panel d'experts, recherche de la littérature sur une base de données (pubmed) (1994-avril 2009), nombre d'études retenues non renseigné, pas de critères de jugements ni de critères de sélection de la littérature, gestion des liens d'intérêts des experts.</p> <p>Clarté de présentation des recommandations : Pas d'algorithme de stratégie diagnostique présenté, population cible partiellement décrite.</p> <p>Existence et qualité de l'argumentaire scientifique : Méthode de gradation adaptée (force et niveau de preuve), résumé des argumentaires menant aux recommandations</p> <p>Pertinence et applicabilité des recommandations pour la pratique : Population cible partiellement décrite.</p> <p>Commentaires : Recommandations émises par deux sociétés savantes, mise à jour de recommandations datant de 1995. Prévoient d'examiner annuellement le besoin d'une mise à jour des recommandations.</p>	<p>La recherche de <i>C. difficile</i> ou ses toxines ne devrait être réalisée que sur des selles diarrhéiques (non formées) à moins qu'un iléus du à <i>C. difficile</i> ne soit suspecté (B-II).</p> <p>Il n'est pas recommandé de tester les selles des patients asymptomatiques ou de vérifier l'efficacité des traitements, en dehors d'études à visée épidémiologique (B-III).</p> <p>Bien que la culture de selles ne soit pas pratique du point de vue clinique en raison de son long délai d'exécution, la sensibilité et la spécificité de la culture de selles suivie de l'identification d'isolats toxigéniques (culture toxigénique) réalisée par un laboratoire expérimenté, est un standard auxquels les résultats des autres tests cliniques devraient être comparés. (B-III).</p> <p>La culture des selles est le test le plus sensible et est essentiel pour les études épidémiologiques (A-II).</p> <p>Le test EIA de détection des toxines A et B de <i>C. difficile</i> est rapide mais est moins sensible que le test de cytotoxicité et est ainsi une moins bonne approche alternative pour le diagnostic (B-II).</p> <p>La recherche de toxines est plus importante cliniquement, mais est entravée par son manque de sensibilité. Une stratégie potentielle pour remédier à ce problème est une méthode à deux étapes qui utilise la détection de la GDH par test EIA comme test de screening puis ensuite utilise un test de cytotoxicité ou une culture toxigénique comme test de confirmation uniquement des échantillons de selles GDH+. Les résultats semblent différer selon le kit de test GDH utilisé ; cependant, jusqu'à ce que davantage de données soient disponibles sur la sensibilité du test de la GDH, cette approche reste une recommandation provisoire (B-II).</p> <p>La PCR apparaît être rapide, sensible et spécifique et pourrait enfin répondre aux problèmes de diagnostic. Plus de données sur son utilisation sont nécessaires avant que cette méthode ne puisse être recommandée en routine (B-II).</p> <p>Répéter les tests pendant un même épisode de diarrhée est d'une valeur limitée et devrait être déconseillé. (B-II).</p>	<p>Pas de recherche systématique de la littérature.</p> <p>Pas d'algorithme de stratégie diagnostique présenté.</p>

Champ	Qualité méthodologique du document	Conclusions principales des auteurs	Commentaires HAS
<i>Updated Guidance on the diagnosis and reporting of Clostridium difficile, NHS, mars 2012 (33)</i>			
<p>Identifier la combinaison de tests (deux types de tests) qui produit les résultats les plus fiables pour la recherche d'ICD.</p>	<p>Méthode d'élaboration des recommandations : Reposent sur une étude diagnostique observationnelle (4 laboratoires du NHS), 12 441 échantillons de selles, peu de transparence sur la méthode d'élaboration des recommandations, absence de groupe de lecture externe.</p> <p>Clarté de présentation des recommandations : Présence d'un algorithme, population cible décrite.</p> <p>Existence et qualité de l'argumentaire scientifique : Pas de gradation, forces et limites des preuves scientifiques non décrites.</p> <p>Pertinence et applicabilité des recommandations pour la pratique : interprétation des différents résultats possibles des tests, foire aux questions utile pour guider le clinicien.</p> <p>Commentaires : Etude demandée dans le précédent rapport de 2009.</p>	<p>Si un patient a une diarrhée qui n'est pas clairement attribuable à une maladie sous-jacente ou une thérapie, il est nécessaire de déterminer si elle est due à une ICD, il est donc recommandé d'initier la recherche de <i>C. difficile</i>.</p> <p>Les échantillons de diarrhée devraient être testés pour les patients de plus de deux ans hospitalisés, pour les diarrhées communautaires de patients de plus de 65 ans et de patients de moins de 65 ans si cliniquement indiqué.</p> <p>Les échantillons de selles doivent prendre la forme du contenant et idéalement être au moins remplis au ¼ avant d'être envoyés au laboratoire.</p> <p>Pour les cas suspectés d'ICD « silencieux » tels que les iléus, les colites pseudo-membraneuses, les mégacolons toxiques sans diarrhées d'autres procédures peuvent être requises (coloscopie,..).</p> <p>Les tests EIA de détection des toxines de <i>C. difficile</i> ne sont pas souhaitables comme uniques tests pour le diagnostic des ICD ou la détection de <i>C. difficile</i>.</p> <p>Stratégie à deux étapes recommandée : test EIA de détection de la GDH (ou TAAN), suivi d'un test EIA sensible de détection des toxines (ou un test de cytotoxicité). Si le 1^{er} test est négatif (GDH ou TAAN), le 2nd test (test de détection sensible des toxines) n'a pas besoin d'être réalisé.</p>	<p>Très peu de détails sur le protocole de l'étude, population non renseignée, valeurs prédictives et positives calculées à partir de l'étude sans indication de prévalence de l'infection dans la population étudiée.</p>

Champ	Qualité méthodologique du document	Conclusions principales des auteurs	Commentaires HAS
<i>Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of Clostridium difficile infections, février 2013 (7)</i>			
<p>Recommandations pour le diagnostic et la prise en charge des patients avec ICD ainsi que pour la prévention et le contrôle de l'épidémie de <i>C. difficile</i>.</p>	<p>Méthode d'élaboration des recommandations : Méthode partiellement décrite, pas de recherche systématique de la littérature décrite, nombre d'études retenues non renseigné, pas de critères de jugement ni de critères de sélection de la littérature, pas de relecture par des experts externes, absence de gestion des liens d'intérêts des auteurs.</p> <p>Clarté de présentation des recommandations : Absence d'algorithme de stratégie diagnostique, manque de précision pour la pratique.</p> <p>Existence et qualité de l'argumentaire scientifique : Recommandations gradées par méthode GRADE, résumé des argumentaires menant aux recommandations.</p> <p>Pertinence et applicabilité des recommandations pour la pratique : Population cible partiellement décrite, ne proposent pas une réelle stratégie diagnostique.</p> <p>Commentaires : Recommandations émises par le département de médecine de l'université de Washington.</p>	<p>Seulement les échantillons de patients avec diarrhée devraient être testés pour <i>C. difficile</i> (recommandation forte, fort niveau de preuve).</p> <p>Les TAANs pour les gènes des toxines de <i>C. difficile</i> telle que la PCR sont supérieurs aux tests EIA toxines A + B comme test de diagnostic standard d'ICD (recommandation forte, niveau de preuve modéré).</p> <p>Les tests de screening par la GDH pour <i>C. difficile</i> peuvent être utilisés dans un algorithme à deux ou trois étapes avec un test EIA toxines A + B subséquent, mais la sensibilité de cette stratégie est inférieure à celle des TAANs (recommandation forte, niveau de preuve modéré).</p> <p>5 études citées a priori de comparaison des TAANs à ces tests</p>	<p>Pas de recherche systématique de la littérature.</p> <p>Description incomplète de la population cible.</p> <p>Pas d'algorithme de stratégie diagnostique.</p> <p>Problème de détection de porteurs asymptomatiques avec les tests TAANs non clairement évoqué.</p>

Champ	Qualité méthodologique du document	Conclusions principales des auteurs	Commentaires HAS
<i>Surveillance, Diagnosis and Management of Clostridium difficile Infection in Ireland, juin 2014 (34)</i>			
<p>Améliorer la sécurité et la qualité des soins des patients/résidents en réduisant les infections associées aux soins, en particulier les infections liées à <i>C. difficile</i>.</p>	<p>Méthode d'élaboration des recommandations : Consensus d'experts : groupe de travail représentatif (groupe multidisciplinaire des précédentes recommandations + association de patients + séjours de longue durée + pharmaciens + gastroentérologues), recherche systématique de la littérature sur une base de données (pubmed, Cochrane, Scopus) de 2007 à fin septembre 2012, nombre d'études retenues non renseigné, conflits d'intérêts détaillés des participants (8 sur 22) figurent dans le document, gestion des liens d'intérêts, méthode de travail transparente, relecture externe.</p> <p>Clarté de présentation des recommandations : Présence d'un algorithme de stratégie diagnostique.</p> <p>Existence et qualité de l'argumentaire scientifique : Méthode de gradation partiellement adaptée (niveau de preuve gradé mais non la force), résumé des argumentaires menant aux recommandations.</p> <p>Pertinence et applicabilité des recommandations pour la pratique : Population cible plutôt bien décrite.</p> <p>Commentaires : Mise à jour de cette recommandation</p>	<p>Un test des selles devrait être demandé par les cliniciens dès que possible chez les patients/résidents avec une diarrhée infectieuse potentielle. Attendre pour initier un prélèvement/examen jusqu'à ce que par exemple trois épisodes de diarrhées soient apparus n'est pas recommandé (Grade D).</p> <p>Tous les spécimens de diarrhées (associées aux soins et communautaire) devraient être testés pour <i>C. difficile</i> quelle que soit la demande du médecin ou le lieu de début de la diarrhée (Grade B).</p> <p>Le test de détection des toxines de <i>C. difficile</i> devrait être restreint chez les enfants âgés de moins de deux ans. Des exceptions devraient être faites à la discrétion des pédiatres/microbiologistes/infectiologues basées sur les données épidémiologiques locales ou s'il y a des preuves manifestes dans un cas particulier (Grade C).</p> <p>Seules les selles diarrhéiques (non formées) devraient être testées pour la toxine de <i>C. difficile</i> (Grade B).</p> <p>Pour une recherche optimale par les laboratoires, seuls les échantillons fraîchement prélevés devraient être examinés (Grade B).</p> <p>Un test de routine des selles de patients/résidents asymptomatiques n'est pas cliniquement utile (Grade D).</p> <p>Dans le cas d'iléus et de suspicion d'ICD, un test sur des selles formées est acceptable ou alternativement un écouvillonnage rectal peut être pratiqué. D'autres procédures diagnostiques (scan abdominal, coloscopie) peuvent aussi être requises (Grade D).</p> <p>Si un résultat de laboratoire négatif à <i>C. difficile</i> a été précédemment obtenu, il n'est pas recommandé de répéter le test (Grade B).</p> <p>Une fois que le diagnostic d'ICD est confirmé, les patients/résidents ne devraient pas être testés à nouveau pour la toxine de <i>C. difficile</i> lors d'un traitement anti-<i>C. difficile</i> (Grade B).</p> <p>Un test d'efficacité du traitement n'est pas recommandé et</p>	<p>Force des recommandations non gradée.</p> <p>Problème de détection de porteurs asymptomatiques avec les tests TAANS clairement évoqué.</p>

Champ	Qualité méthodologique du document	Conclusions principales des auteurs	Commentaires HAS
	<p>prévue pour 2017 si nécessaire. Insuffisance de données pour conclure à une approche optimale.</p>	<p>n'est pas non plus requis avant transfert/sortie (Grade D).</p> <p>En cas de récurrence de la diarrhée après un intervalle sans symptômes chez un patient/résident avec une ICD récente, un nouvel échantillon de selles doit être testé pour la recherche des toxines de <i>C. difficile</i> et exclure les autres causes potentielles de diarrhée (Grade B).</p> <p>Le test EIA de détection des toxines de <i>C. difficile</i> n'est pas souhaitable comme unique test pour le diagnostic des ICD (Grade B).</p> <p>En tant que test de screening, le test EIA de détection de la GDH ou un test TAAN peuvent être utilisés. Si le test de screening est négatif un second test n'est pas nécessaire (Grade B).</p> <p>Si le test de screening GDH est positif, un second test pour détecter soit la toxine (EIA, test de cytotoxicité) ou les gènes des toxines par TAAN, est requis (Grade B).</p> <p>L'interprétation des résultats d'un TAAN positif et la prescription d'un second test de recherche des toxines par EIA doivent être corrélées avec la clinique (Grade B).</p> <p>Si le 1^{er} test est la GDH et est positif, et le second test est la recherche de toxine par EIA et est négatif, alors un TAAN, un test de cytotoxicité ou une culture toxigénique doivent être considérés en tant que test additionnel. Si un des tests est positif, alors le patient/résident doit être considéré soit comme un porteur d'une souche toxigénique de <i>C. difficile</i> ou un cas d'IDC selon l'évaluation clinique (c.-à-d. l'absence ou la présence de symptômes) (Grade B). Un second test EIA de détection des toxines dans ces cas pourrait aider à différencier une colonisation d'une infection chez ces patients.</p>	

3.2 Synthèse du point de vue des parties prenantes interrogées

3.2.1 Organismes professionnels consultés

Sept organismes ont été consultés. Il s'agissait du Collège de la médecine générale (CMG), du Conseil national professionnel d'Hépatogastro-entérologie (CNP-HGE), du Collège national professionnel de gériatrie (CNP-G), de la Société française d'hygiène hospitalière (SF2H), du Conseil national professionnel - Fédération française d'infectiologie (CNP-FFI), de la Société française de biologie clinique (SFBC) et le laboratoire *Clostridium difficile* associé au CNR des bactéries anaérobies et du botulisme. La consultation s'est déroulée entre le 18 mai 2016 et le 20 juin 2016 au moyen d'un questionnaire adressé à chacun des organismes professionnels. Cette consultation invitait chaque organisme professionnel à :

- mentionner toute recommandation omise concernant le diagnostic d'une infection à *C. difficile*;
- commenter l'analyse médicale et méthodologique conduite dans ce rapport ;
- répondre à des questions concernant les caractéristiques et la place dans la stratégie diagnostique d'une ICD des deux tests diagnostiques évalués.

Les réponses au questionnaire figurent *in extenso* en Annexe 5 du rapport. Ne figure ci-dessous que le résumé des principaux commentaires.

3.2.2 Synthèse des réponses des parties prenantes

Parmi les sept parties prenantes (PP) interrogées, quatre ont répondu aux questions posées. Il s'agit du Conseil national professionnel d'Hépatogastro-entérologie (CNP-HGE), de la Société française d'hygiène hospitalière (SF2H), et de la Société française de biologie clinique (SFBC) et du laboratoire *Clostridium difficile* associé au CNR des bactéries anaérobies et du botulisme. Il est à noter que la SF2H a fait répondre en son nom le laboratoire *Clostridium difficile* associé au CNR des bactéries anaérobies et du botulisme. Le Collège de la médecine générale (CMG) et le Collège national professionnel de gériatrie (CNP-G) ont fait savoir qu'ils ne répondraient pas au questionnaire ; le Conseil national professionnel - Fédération française d'infectiologie (CNP-FFI) n'a pas répondu aux sollicitations de la HAS.

L'amplification génique

- Quelle(s) est/sont la/les meilleure(s) cible(s) pour les TAANs ? Gène de la toxine A et/ou gène de la toxine B ? Associé(s) ou non à d'autres gènes cibles ?

Les PP ont précisé que les cibles classiques des TAANs sont le gène de la toxine B et la partie conservée du gène de la toxine A, qui permettent à elles deux de reconnaître toutes les souches toxigènes, sauf les souches produisant uniquement la toxine binaire (A-/B-). Bien que ces cibles reconnaissent la souche 027, leur utilisation ne permet pas de déterminer s'il s'agit de cette souche. Pour détecter cette souche 027, il est nécessaire de cibler le gène régulateur/répresseur des toxines A et B (gène *tcdC*). Pour les souches productrices de la toxine binaire, il est nécessaire de cibler le gène spécifique de cette toxine (gène *cdt*).

- Ces cibles sont-elles les mêmes selon la technique, PCR ou LAMP ?

Les PP ont également précisé que les différentes trousse présentes sur le marché, qu'il s'agisse des trousse LAMP ou PCR, utilisent des amorces qui peuvent varier d'une trousse à l'autre.

- Y a-t-il d'autres différences à noter entre ces deux techniques ?

Les principales différences entre ces deux techniques décrites par la SF2H et la SFBC sont que les tests LAMP ne nécessitent pas un secteur spécifiquement dédié à la biologie moléculaire au sein du laboratoire et sont d'utilisation relativement simple contrairement à la PCR qui doit être réalisée sur des automates, et donc en série. La SFBC évoque également l'existence

de trousse de PCR permettant à la fois la détection du *Clostridium difficile* et de la souche 027.

- A combien estimez-vous la part des porteurs asymptomatiques de *C. difficile* toxigènes (positifs aux TAANs) parmi les patients présentant une diarrhée avec suspicion d'ICD ? Cette proportion est-elle la même s'agissant d'une diarrhée acquise en milieu communautaire ou hospitalier/établissement de soins ?

Les PP sont d'accord pour dire qu'il s'agit là d'une limite des TAANs mais qu'on ne connaît pas la fréquence de cette situation qui semble assez rare actuellement.

- Comment est gérée cette probabilité de résultat de TAAN positif alors que la diarrhée n'est pas liée à *C. difficile* ?

La SF2H et la SFBC considèrent que le clinicien doit continuer à poser son diagnostic et à décider du traitement sur l'ensemble des données (cliniques, radiologiques, endoscopiques ou biologiques) qu'il a à sa disposition, et pas seulement sur le résultat du TAAN. Le CNP-HGE précise que l'antibiothérapie peut être efficace sur la diarrhée en agissant sur un agent infectieux autre que *C. difficile* (giardiose par exemple), sans que *C. difficile* ne soit pour autant en cause dans la diarrhée.

- Existe-t-il des conditions de réalisation spécifiques pour ces TAANs (prélèvement, transport, conservation, réalisation du test en lui-même...) ?

Concernant les conditions de réalisation de ces tests, la SFBC indique qu'ils ne sont validés que pour des échantillons de selles et que les fabricants recommandent une conservation des selles entre + 2 °C et + 8 °C, ainsi qu'une réalisation du test la plus précoce possible. Cependant, à défaut de ces conditions idéales, elle précise que les échantillons peuvent être conservés environ 24 h à température ambiante voire jusqu'à plusieurs jours entre + 2 °C et + 8 °C. La SF2H considère que ces tests ne nécessitent pas de conditions de réalisation spécifiques car les gènes de toxines sont peu soumis aux conditions de transport des selles puisque *C. difficile* est un germe sporulé qui résiste aux conditions de transport.

- Quels sont les avantages et les inconvénients des TAANs ?

Les parties prenantes citent comme avantage des TAANs la rapidité d'obtention du résultat. Ces tests sont également considérés comme étant sensibles selon la SF2H et la SFBC. La SFBC précise que certains de ces tests permettent de suspecter l'implication d'une souche de PCR-ribotype 027.

Le principal inconvénient évoqué par les parties prenantes est le manque de spécificité des TAANs. En effet, le CNP-HGE précise que la positivité d'un TAAN signifie la présence de *C. difficile* potentiellement toxigène mais ne donne pas d'information vis-à-vis de la production effective, *in vivo*, de toxines et évoque ainsi le risque de surdiagnostic de ces tests suggéré dans la littérature. La SF2H fait notamment part d'autres inconvénients comme une possibilité théorique de mutation au niveau des séquences reconnues par les amorces entraînant la non détection de certains toxinotypes (toxinotype XI), une possibilité de contamination croisée par les produits d'amplification et le coût de ces techniques. La SFBC évoque la possibilité d'inhibition de la réaction d'amplification ainsi que leur coût associé à la nécessité de disposer d'un équipement spécifique et, selon le test moléculaire utilisé, de personnel, voire de locaux dédiés.

- Les techniques TAANs donnent-elles un résultat final qualitatif (même si le résultat brut est quantitatif) ou quantitatif ? Si le résultat est quantitatif, quelle est la signification de la charge bactérienne ?

Selon la SF2H, les tests de PCR peuvent donner un résultat « semi quantitatif » avec le nombre de Ct (cycle seuil d'amplification), tandis que le point de vue de la SFBC est que ce résultat est qualitatif même si une valeur de Ct est fournie. Elle considère en effet, qu'encre

actuellement il faut se garder de toute interprétation quantitative, voire pronostique, de ce type de tests dans l'attente d'études supplémentaires.

- Les trois méta-analyses analysées montrent une sensibilité des TAANs autour de 0,9 par rapport au test de référence (test de cytotoxicité et/ou culture toxigénique). Or, ces tests de référence sont réputés peu sensibles. Comment expliquez-vous ces résultats ?

Les PP ont fait remarquer que les deux comparateurs dépistent deux cibles différentes et ne sont pas équivalents en matière de sensibilité. La SF2H précise qu'il peut y avoir des raisons techniques à un faux négatif de TAAN (hétérogénéité de la présence de *C. difficile* dans les selles, méthode d'extraction...).

Techniques de détection de la GDH

- Quelle(s) est/sont la/les technique(s) validée(s) pour détecter la GDH (immuno-chromatographie, test immuno-enzymatique...)?

Les techniques validées indiquées par la SF2H et la SFBC pour détecter la GDH sont les tests immuno-enzymatiques ou immuno-chromatographiques.

- La détection de la GDH expose-t-elle à des réactions croisées avec d'autres *Clostridium* voire d'autres bactéries ? Ces réactions croisées sont-elles dues au fait que cette enzyme est produite par ces autres bactéries ou bien que les techniques employées reconnaissent des GDH proches de celles produites par *C. difficile* ? En pratique clinique, dans le cadre de la recherche d'une ICD, ces réactions croisées sont-elles un problème ?

Concernant le risque de réactions croisées avec ces tests, la SF2H indique qu'il a déjà observé à de très rares occasions des réactions croisées notamment avec *C. butyricum*. La SFBC mentionne l'observation d'une réaction croisée avec des selles inoculées par *Staphylococcus aureus* (souche Cowan I) ainsi qu'avec d'autres espèces de *Clostridium*. Cependant, les parties prenantes estiment qu'en pratique clinique dans le cadre de la recherche d'une ICD ces réactions croisées ne sont pas un problème car la GDH est un test de dépistage qui en cas de positivité exige de faire secondairement la preuve de la présence des toxines de *C. difficile* ou de leurs gènes.

- Y a-t-il des conditions de réalisation particulières pour la détection de la GDH ?

Les conditions de réalisation des tests de détection de la GDH diffèrent légèrement d'une réponse à l'autre. La SF2H indique qu'en général, les fabricants préconisent une conservation à + 4°C et une réalisation du test sur selles fraîches dans les 24 h ou 48 h suivant leur émission. La SFBC précise que ces tests ne sont validés que pour des échantillons de selles et que les échantillons doivent être conservés à + 2 °C - + 8 °C et soumis au test dès que possible. Une conservation est néanmoins possible plusieurs jours à + 2 °C - + 8 °C, et jusqu'à un mois à - 20 °C.

- Quels sont les avantages et les inconvénients des techniques de détection de la GDH ?

Les avantages des techniques de détection de la GDH cités par les parties prenantes sont leur rapidité et leur excellente valeur prédictive négative. La SF2H ajoute comme avantage leur faible coût.

Les inconvénients de ces tests sont leur manque de spécificité (réactions croisées décrites et détection des souches non toxigènes). La SFBC précise que ce test ne peut donc être réalisé seul en cas de positivité. Il doit être suivi d'un test de détection des toxines pour définir si la souche potentiellement détectée de *C. difficile* est toxigène (pathogène) ou non toxigène (non pathogène).

Stratégie actuelle de prise en charge d'une suspicion d'ICD

- Avez-vous connaissance de recommandations existantes non citées dans le rapport ? Avez-vous connaissance de recommandations en cours d'élaboration ? Si oui, quelle est la date de publication prévisionnelle et présentent-elles d'autres algorithmes que ceux présentés dans les recommandations analysées ?

Les parties prenantes citent des recommandations n'apparaissant pas dans le rapport. Il s'agit des recommandations de l'ESCMID de 2009 et leur actualisation qui devrait être prochainement publiée, ainsi que des recommandations australiennes de 2011 qui ont été actualisées en 2016.¹⁵

- Quelle est l'indication de recherche de *C. difficile* (quelle situation clinique doit faire suspecter une ICD) ?

L'indication de recherche de *C. difficile* est selon les parties prenantes une suspicion d'ICD en cas de :

- ▶ diarrhée post-antibiothérapie,
 - ▶ diarrhée nosocomiale,
 - ▶ diarrhée communautaire persistante et sans amélioration au-delà de 3 jours malgré le traitement symptomatique ou associée d'emblée à des signes de gravité, avec ou sans antibiotiques (caractéristiques décrites par le CNP-HGE),
 - ▶ colite pseudo-membraneuse.
- Quelle(s) est/sont la/les stratégie(s) diagnostique(s) actuellement mise(s) en œuvre pour détecter une ICD, utilisée(s) en France ? Quelle est la stratégie la plus fréquente le cas échéant ?

Concernant les stratégies diagnostiques actuellement mises en œuvre en France, pour détecter une ICD, la SF2H et la SFBC citent une étude récente de *Barbut et al.* (Barbut et al. 2015) montrant une évolution des techniques diagnostiques utilisées dans les laboratoires. Cette étude basée sur 70 établissements de santé participant montrait que plus de la moitié (53 %) des laboratoires a adopté un algorithme de diagnostic en 2 ou 3 étapes (en accord avec les recommandations européennes publiées en 2009 (8) mais que le nombre de laboratoires utilisant encore une seule méthode de diagnostic basée sur un test immuno-enzymatique de détection des toxines (déconseillé selon les recommandations européennes du fait de son manque de sensibilité) était de 14 % (décembre 2012-juillet 2013).

- Les techniques TAANs peuvent-elles trouver leur place dans une ou plusieurs de ces stratégies ? Laquelle ? Pourquoi ? Avantages et inconvénients ?

La ou les places assignées au TAAN diffèrent selon les PP. Ainsi, la SF2H et la SFBC indiquent que les TAANs peuvent être utilisés en 1^{ère} ligne comme test de dépistage (suivi, en cas de résultat positif, par un test de détection des toxines libres) ou en seconde ligne comme méthode de confirmation après un test de dépistage de la GDH positif ; voire en 3^{ème} ligne après une GDH positive et un résultat négatif par méthode EIA de recherche des toxines A/B ou un test de cytotoxicité. La SFBC cite également les recommandations américaines, dans lesquelles les TAANs peuvent également être positionnés comme seul test réalisé. La SF2H indique que l'avantage des TAANs utilisés comme méthode de dépistage est de permettre au clinicien de mettre en place très rapidement en cas de résultat positif des précautions complémentaires contacts avec leurs spécificités pour les infections à *C. difficile*.

- Les techniques de détection de la GDH peuvent-elles trouver leur place dans une ou plusieurs de ces stratégies ? Laquelle ? Pourquoi ? Avantages et inconvénients ?

¹⁵ Ces deux recommandations, ESCMID 2009 et recommandations australiennes de 2011, avaient été identifiées par la recherche bibliographique mais n'ont pas été sélectionnées car ne répondant aux critères de plage temporelle et de qualité méthodologique (voir partie méthode § 2.2.1 et § 2.2.2).

La SF2H et la SFBC considèrent que les techniques de détection de la GDH peuvent être utilisées dans le diagnostic d'une ICD. Leur place se situe uniquement comme méthode de tri, seule en cas de résultat négatif ou en association avec la détection des toxines en cas de résultat positif de la GDH.

- Quelle serait selon vous la stratégie à privilégier ? Pourquoi ?

Selon les parties prenantes, il n'y pas une stratégie de recherche à privilégier mais plusieurs algorithmes de recherches sont possibles.

Selon la SF2H, la stratégie à privilégier dépend de l'organisation du laboratoire, des moyens dont il dispose, du flux de selles qu'il doit quotidiennement traiter.

Le point de vue du CNP-HGE est qu'une recherche conjointe de la GDH et de gènes de toxines par TAAN permet de ne méconnaître pratiquement aucune ICD. En cas de positivité du test de cytotoxicité sur filtrat de selles, l'ICD est certaine. En attendant un meilleur niveau de preuve sur la valeur des TAANs, il semble raisonnable de privilégier une stratégie en deux temps avec, dans un premier temps la recherche de GDH, et si cette recherche est positive, la réalisation d'un TAAN ou un test ELISA de détection des toxines. En cas de GDH négatif mais de forte suspicion d'infection à *C. difficile*, le CNP-HGE propose de débiter un traitement en attendant les résultats des tests de référence. En cas de discordance, un traitement d'épreuve d'attente est justifié pendant l'arbitrage avec la culture toxigénique :

- si GDH positive et TAAN négatif, une culture toxigénique fera la part entre un faux positif de la GDH et un faux négatif du TAAN,
- si GDH négative et TAAN positif, la culture toxigénique tranchera entre un faux négatif de la GDH et un faux positif du TAAN ;

La SFBC rappelle qu'une équipe a catégorisé les stratégies diagnostiques actuelles en « Optimales », « Sub-optimales » et « Incomplètes » (4).

La SFBC préconise l'une des deux stratégies qualifiées d'optimales, à savoir :

- une méthode moléculaire, suivi d'un test de confirmation : détection des toxines libres,
- un test de détection de la GDH et des toxines, suivi d'un test de confirmation : méthode moléculaire ou culture toxigénique.

Ces 2 algorithmes, comprenant deux étapes, sont à la fois sensibles et spécifiques car ils permettent la détection des toxines libres et d'une souche toxigène ou des gènes codant les toxines.

Autres questions

De façon globale, les parties prenantes estiment que le document transmis reflète les données publiées dans la littérature mais la SF2H et la SFBC suggèrent d'ajouter quelques informations de contexte et ont effectué quelques remarques et corrections concernant le document transmis pour relecture¹⁶.

Les trois parties prenantes estiment l'analyse présentée dans ce rapport comme étant cohérente, objective et précise.

La SF2H s'étonne du fait que la SFM (société française de Microbiologie) ne fasse pas partie des organismes professionnels consultés¹⁷.

La SFBC fait part d'une remarque concernant le problème de la sous-détection majeure actuelle des ICD dans notre pays. Elle considère qu'une modification de la nomenclature des actes de biologie moléculaire réalisés pour le diagnostic d'ICD pourrait en partie contribuer à une amélioration de la détection en incitant certains laboratoires à modifier leurs algorithmes de diagnostic des ICD (36).

¹⁶ Il a été tenu compte de ces remarques.

¹⁷ Compte-tenu de la vocation de la SFBC à représenter l'ensemble de la biologie médicale, c'est cet organisme qui est sollicité par la HAS pour toutes les évaluations de cette spécialité.

4. Synthèse et conclusion

Aucune des trois techniques actuellement inscrites à la NABM pour le diagnostic de *C. difficile* (test de cytotoxicité, test de culture toxigénique et test de détection direct des toxines dans les selles) ne présentent à la fois une sensibilité et une spécificité suffisantes pour pouvoir être utilisées seules dans le diagnostic d'une infection à *C. difficile*. Pour deux d'entre elles (test de cytotoxicité et test de culture toxigénique), les temps d'obtention des résultats sont en inadéquation avec la nécessité d'initiation rapide de l'antibiothérapie pour la prise en charge d'une infection à *C. difficile*.

La présente évaluation a porté sur deux autres tests, non-inscrits sur la NABM : les TAANs et la détection de la GDH. Cette évaluation a consisté en une analyse critique de la littérature synthétique et le recueil de la position des organismes professionnels, interrogés comme parties prenantes.

La synthèse des résultats de la littérature sectionnée et analysée, relatifs aux performances des TAANs et à la place des TAANs et du test de détection de la GDH dans le diagnostic d'une infection à *C. difficile* est la suivante :

- Les trois méta-analyses et le rapport d'évaluation technologique ont des conclusions convergentes avec une spécificité des TAANs proche de 1 (vs le test de cytotoxicité et/ou la culture toxigénique) et une sensibilité proche de 0,9 (vs ces mêmes tests de référence). Cependant, ces résultats sont à prendre avec précaution compte tenu de la faiblesse méthodologique ou du manque de description de la méthode d'élaboration des documents et des études sur lesquels ils sont fondés. En effet, la population incluse dans les études sélectionnées dans ces méta-analyses et ce rapport est insuffisamment renseignée et les études sélectionnées présentent des hétérogénéités entre elles.
- Les quatre recommandations de bonne pratique incluent le test de détection de la GDH dans les examens de mise en évidence d'une ICD ; elles le présentent comme utile en tant que test de tri et devant être suivi, en cas de positivité, d'un ou deux autres tests (selon les algorithmes). Les TAANs sont également inclus dans ces recommandations mais uniquement les plus récentes et la place assignée à cet examen est très variable (unique examen, examen de première ligne, examen de confirmation). Il est à noter que ces RBP sont de faible qualité méthodologique (faible description de la méthode d'élaboration et manque de gradation des préconisations).

La synthèse de la position des organismes professionnels ayant répondu (biologie clinique, hygiéniste, hépato-gastro-entérologie et CNR) est la suivante :

- Les TAANs et la détection de la GDH, font partie des outils diagnostiques participant à l'identification d'une ICD ;
- il existe plusieurs stratégies diagnostiques possibles qui ne sont pas hiérarchisées, elles font intervenir ou non ces deux examens ; il est donc difficile de définir précisément la place de ces examens ;
- les organismes professionnels ont enfin précisé un certain nombre de points concernant les conditions de réalisation de ces deux examens.

Au total, sur la base des données recueillies au cours de cette évaluation, il peut être conclu que les deux examens étudiés font partie des outils diagnostiques actuels d'identification d'une ICD.

Il n'est cependant pas possible de définir précisément leurs places dans la démarche diagnostique, notamment car plusieurs stratégies diagnostiques coexistent.

La HAS rappelle néanmoins que le test de détection de la GDH ne pouvant pas déterminer si le *C. difficile* identifié est toxigène ou non, il s'agit d'un examen de tri devant être suivi, en cas de résultat positif, d'un examen permettant de déterminer ce caractère toxigène. Les techniques permettant de détecter la GDH sont immuno-enzymatiques ou immuno-chromatographiques.

En ce qui concerne les TAANs, ils doivent reconnaître la quasi-totalité des souches, c'est à dire cibler le gène de la toxine B et/ou la partie conservée du gène de la toxine A. Cependant, même avec l'utilisation de ce type de TAANs, la HAS rappelle que :

- un résultat négatif ne doit notamment pas faire oublier la probabilité d'une ICD due à une souche produisant la toxine binaire (codée par un gène spécifique) ;
- un résultat positif ne doit pas faire oublier la probabilité d'un portage asymptomatique d'une souche toxigène de *C. difficile*, en particulier pour les patients hospitalisés et surtout les jeunes enfants (âgés de moins de 2 à 3 ans) ;
- un résultat positif ne permet pas d'identifier la souche 027, ce qui nécessite le ciblage de son gène régulateur.

En conséquence, le diagnostic d'ICD doit être posé et la décision de traitement prise sur l'ensemble des données à la disposition du clinicien, et pas seulement sur le résultat de ce seul examen, qui doit faire l'objet d'un dialogue biologico-clinique. Les techniques de TAANs sont de type PCR (plus étudiée et plus utilisée) ou de type LAMP ; le résultat d'un TAAN est qualitatif.

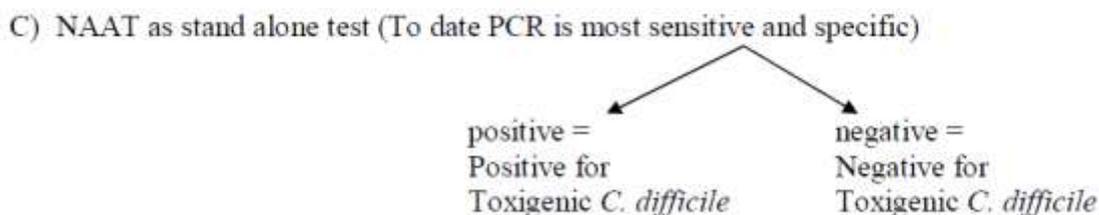
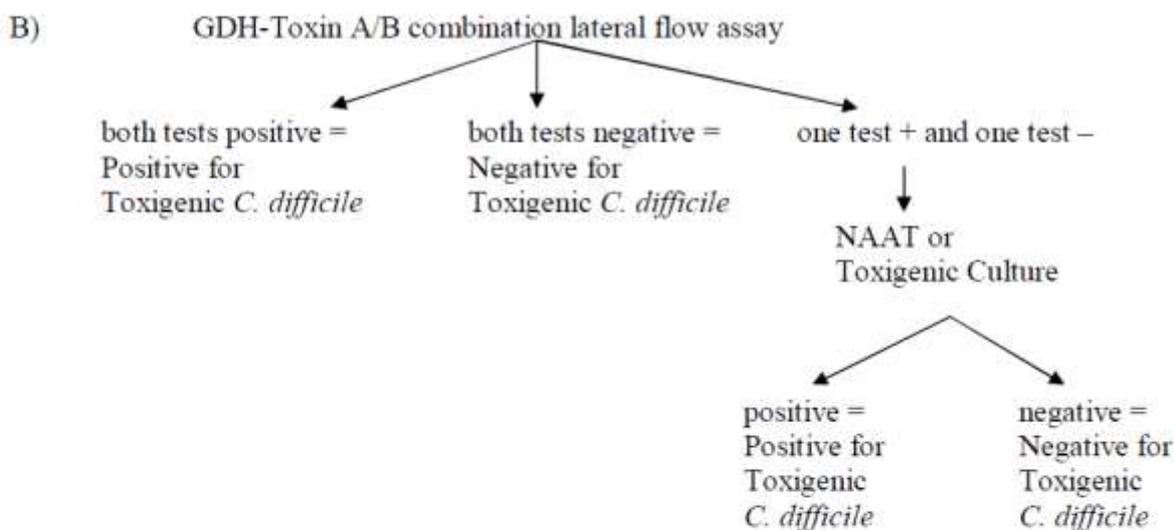
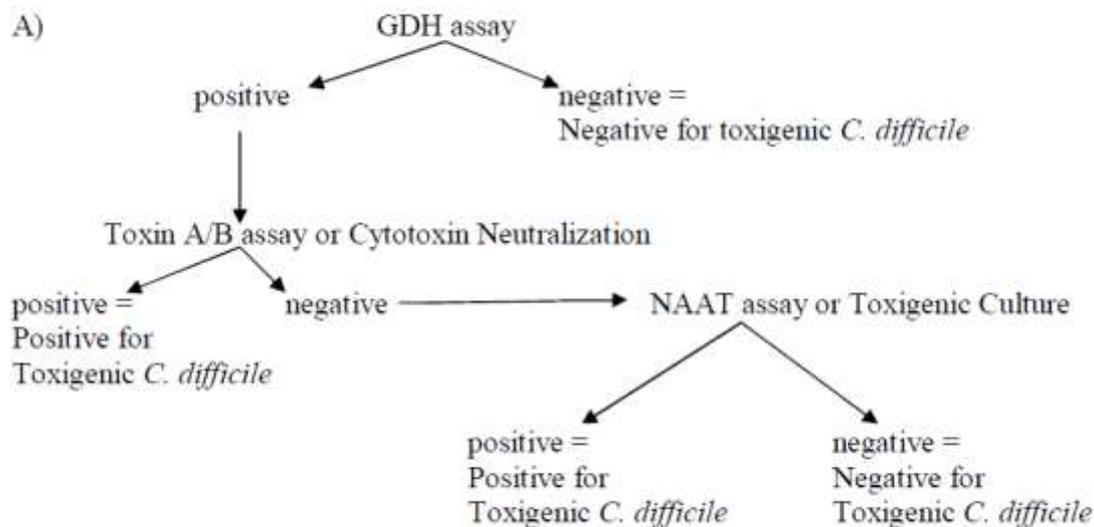
Par ailleurs, il est précisé que l'indication de recherche de *C. difficile* est une suspicion d'ICD en cas de :

- diarrhée survenant post-antibiothérapie ;
- diarrhée nosocomiale ;
- diarrhée communautaire persistante et sans amélioration au-delà de 3 jours malgré le traitement symptomatique ou associée d'emblée à des signes de gravité, avec ou sans antibiothérapie ;
- colite pseudo-membraneuse.

La recherche de *C. difficile* n'a pas d'utilité dans le suivi du traitement.

Annexe 1. Exemple d'algorithmes diagnostiques proposés par la recommandation de l'*American Society for Microbiology* de 2010 (23)

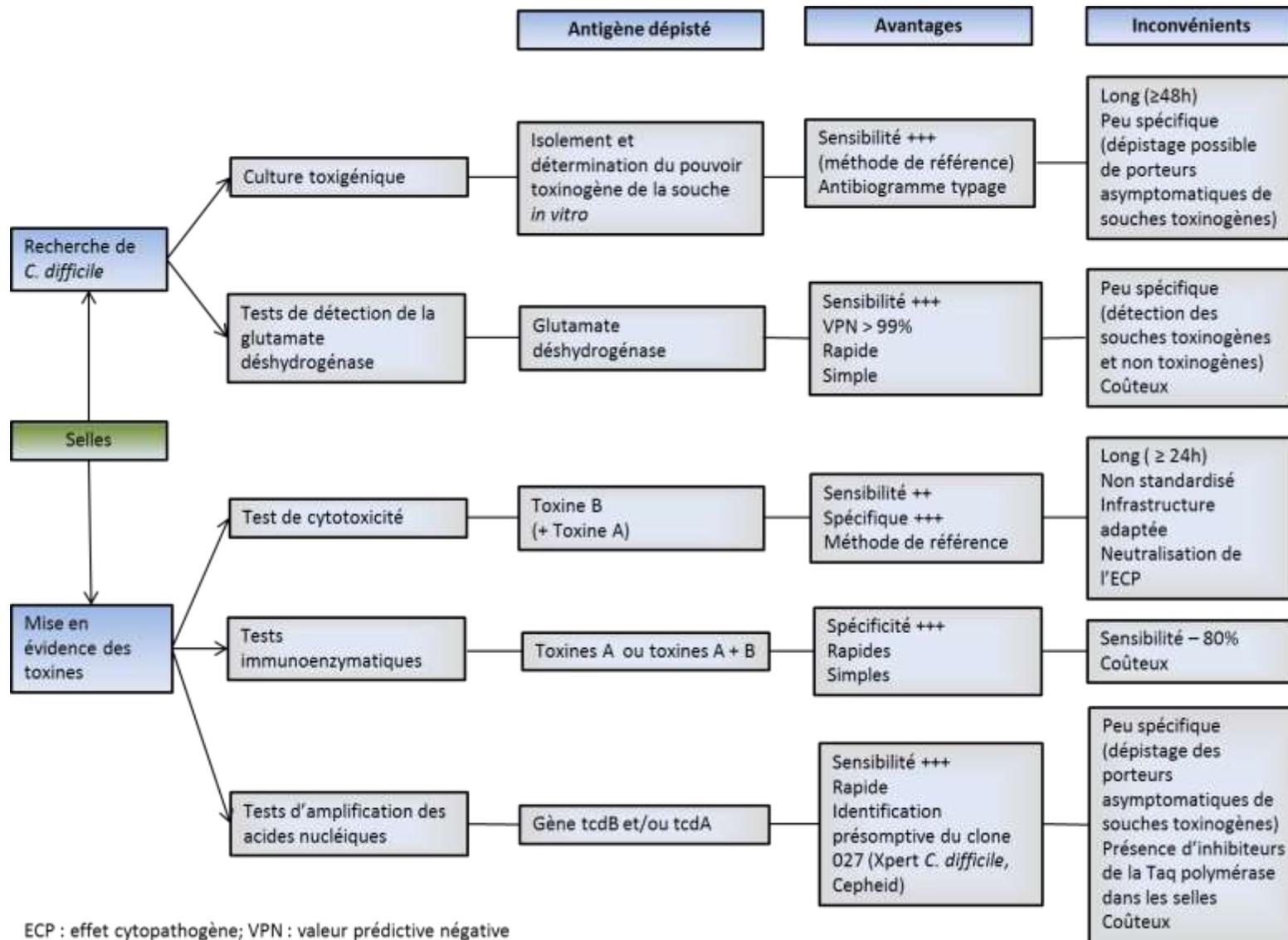
THREE SAMPLE ALGORITHMS:



REFERENCES:

Infect Control Hosp Epidemiol. 2010; 31(5):431-55. *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).* Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, Kelly CP, Loo VG, McDonald LC, Pepin J, Wilcox MH.

Annexe 2. Avantages et inconvénients des méthodes de diagnostic des infections à *Clostridium difficile*



D'après les articles de : Eckert C & Barbut F. Infections à *Clostridium difficile*. Médecine/Sciences 2010 ; 26 : 153-8 ; et Eckert C, et al. Diagnostic des infections à *Clostridium difficile*. Journal des Anti-infectieux (2011).

Annexe 3. Recherche documentaire

Bases de données bibliographiques

La stratégie d'interrogation des bases de données précise pour chaque question et/ou types d'étude les termes de recherche utilisés, les opérateurs booléens et la période de recherche.

Les termes de recherche utilisés sont soit des termes issus de thésaurus (descripteurs), soit des termes libres (du titre ou du résumé). Ils sont combinés avec les termes décrivant les types d'études.

La recherche a porté sur les publications en langue anglaise et française.

Le Tableau 7 présente de façon synthétique les étapes successives de cette interrogation dans la base de données *Medline*. Le nombre total de références obtenues par interrogation de cette base de données bibliographiques est 100.

Tableau 7. Stratégie de recherche dans la base de données *Medline*

Type d'étude/sujet		Période
Termes utilisés		
Infection par <i>Clostridium difficile</i> : recommandations et conférences de consensus		01/2010-05/2016
Etape 1	<i>Clostridium difficile</i> /de OR (<i>Clostridium difficile</i> OR C. difficile/ti, ab	
ET		
Etape 2	(recommendation* OR guideline* OR statement* OR consensus OR position paper)/ti OR health planning guidelines/de OR (practice guideline OR guideline OR Consensus Development Conference OR Consensus Development Conference, NIH)/pt)	
Diagnostic d'une infection par <i>Clostridium difficile</i> : méta-analyses et revues systématiques		01/2010-05/2016
Etape 1		
ET		
Etape 3	(Diagnosis OR Nucleic Acid Amplification Techniques OR Glutamate Dehydrogenase OR Immunoenzyme Techniques)/de OR diagnosis/Subheading OR (screen* OR test OR tests OR testing OR detection* OR DNA amplification* OR nucleic acid amplification* OR molecular test* OR nucleic acid detection* OR Polymerase Chain Reaction OR PCR OR glutamate dehydrogenase OR GDH OR enzyme immunoassay OR EIA)/ti,ab	
ET		
Etape 4	(metaanalys* OR meta-analys* OR meta analysis OR systematic review* OR systematic overview* OR systematic literature review* OR systematical review* OR systematical overview* OR systematic literature review* OR systematic literature search)/ti OR meta-analysis/pt OR cochrane database syst rev/ta	

de : descriptor ; ti : title ; ab : abstract ; ta : journal title ; pt : publication type

Liste des sites consultés

Bibliothèque médicale Lemanissier
Catalogue et index des sites médicaux francophones - CISMéF
Comité d'évaluation et de diffusion des innovations technologiques - CEDIT
Evaluation des technologies de santé pour l'aide à la décision (Fédération hospitalière de France) - ETSAD
Expertise collective INSERM
Fédération française d'infectiologie - FFI
Haut conseil de la santé publique - HSCP
Haute Autorité de santé - HAS
Institut de veille sanitaire - InVS
Institut Pasteur - CNR des bactéries anaérobies et botulisme
Société française de médecine générale - SFMG
Société française de microbiologie - SFM

Adelaide Health Technology Assessment - AHTA
Agency for Healthcare Research and Quality - AHRQ
Alberta Heritage Foundation for Medical Research - AHFMR
Alberta Medical Association
American college of gastroenterology - ACG
American College of Physicians - ACP
American Society for Microbiology - ASM
Association of Medical Microbiology and Infectious Disease Canada - AMMI
Australia and New Zealand Horizon Scanning Network
Blue Cross Blue Shield Association - BCBS - Technology Evaluation Center
British Columbia Centre for Health Services and Policy Research
California Technology Assessment Forum - CTAF
Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health - CADTH
Canadian Association for Clinical Microbiology and Infectious Diseases - CACMID
Canadian College of Microbiologists - CCM
Canadian Society of Microbiologists - CSM
Canadian Task Force on Preventive Health Care
Centers for Disease Control and Prevention - CDC
Centre fédéral d'expertise des soins de santé - KCE
Centre for Clinical Effectiveness - CCE
Centre for Reviews and Dissemination databases
Clinical Practice Guidelines Portal
CMA Infobase
Cochrane Library
EUnetHTA
European Centre for Disease Prevention and Control - ECDC
European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases - ESCMID
Euroscan
Guideline Advisory Committee - GAC
Guidelines and Protocols Advisory Committee - GPAC
Guidelines International Network - GIN
Health Services Technology Assessment Text - HSTAT
Infectious Diseases Society of America - IDSA
Institut national d'excellence en santé et en services sociaux - INESSS
Institut national de santé publique du Québec
Institute for Clinical Evaluative Sciences - ICES
Institute for Clinical Systems Improvement - ICSI
Institute for Health Economics Alberta - IHE

McGill University Health Centre
Medical Services Advisory Committee - MSAC
National Coordinating Centre for Health Technology Assessment - NCCHTA
National Guideline Clearinghouse - NGC
National Health and Medical Research Council - NHMRC
National Health Technology Assessment Programme
National Horizon Scanning Centre - NHSC
National Institute for Health and Clinical Excellence - NICE
New Zealand Guidelines Group - NZGG
NHS Evidence
Ontario Health Technology Advisory Committee - OHTAC
Public Health Agency of Canada - Diseases Prevention and Control Guidelines
Scottish Intercollegiate Guidelines Network - SIGN
Singapore Ministry of Health
Tripdatabase
U.S. Preventive Services Task Force
Veterans affairs, Dep. Of Defense Clinical practice guidelines
World Health Organization Infectious diseases

Annexe 4. Grilles d'évaluation

Check-list de la grille AGREE II-GRS

Méthode d'élaboration des recommandations
Domaines de spécialité des auteurs et compétence méthodologique du groupe de travail ? Recherche bibliographique systématique et exhaustive bien décrite ? Pertinence des grilles d'évaluation utilisées pour estimer le corpus d'évidences scientifiques du document (niveau de preuve formulé par question clinique et non par étude originale) ? Adéquation du corpus d'évidences avec le grade de recommandation retenu ? Exhaustivité des critères de jugement retenus ?
Clarté de compréhension des recommandations
Compréhension rapide du lecteur concernant l'information utile du document ? Hiérarchisation évidente des stratégies pour le lecteur ?
Qualité de l'argumentaire scientifique
Transparence et reproductibilité du travail et de ses conclusions ? Prise en compte de la position de l'ensemble des parties prenantes concernées ?
Pertinence et applicabilité des recommandations pour la pratique
Démonstration évidente de son utilité en vie réelle ? La population cible est-elle pertinente ?

Grille AMSTAR

	Questions	Réponses
1	A-t-on fourni un plan « a priori » ? La question à l'étude et les critères d'inclusion devraient être établis avant l'exécution de l'examen systématique.	Oui Non Ne peut répondre Sans objet
2	Existait-il un double moyen de choisir le sujet d'analyse et d'extraire les données ? Il devrait exister au moins deux extracteurs de données indépendants et un mécanisme pour arriver à un consensus dans les cas de divergences.	Oui Non Ne peut répondre Sans objet
3	A-t-on effectué une recherche complète dans la littérature ? La recherche devrait porter sur au moins deux sources électroniques. Le rapport doit inclure les années et les bases de données utilisées (exemple : Central, EMBASE et MEDLINE). Les auteurs doivent fournir les mots clés et/ou les termes de la chaîne utilisés et, lorsque cela est possible, la stratégie de recherche. Toutes les recherches doivent être complétées par une consultation des contenus courants, des revues, des manuels, de registres spécialisés ou de spécialistes du domaine à l'étude, et par une revue des références contenues dans les études.	Oui Non Ne peut répondre Sans objet
4	La nature d'une publication (exemple : littérature grise) a-t-elle servi de critère d'inclusion ? Les auteurs devraient déclarer qu'ils ont cherché des rapports d'études sans égard au type de publication. Ils devraient aussi dire s'ils ont exclu des rapports à cause de la nature de la publication, de sa langue, etc.	Oui Non Ne peut répondre Sans objet

	Questions	Réponses
5	<p>Les auteurs devraient fournir la liste des études incluses et des études exclues.</p> <p>Les auteurs devraient fournir la liste des études incluses et des études exclues.</p>	<p>Oui</p> <p>Non</p> <p>Ne peut répondre</p> <p>Sans objet</p>
6	<p>Les auteurs ont-ils fourni une description des caractéristiques des études incluses ?</p> <p>Présentées sous une forme condensée comme un tableau, les données de l'étude originale devraient inclure les participants, les interventions et les résultats. L'étude devrait rendre compte des différentes caractéristiques de toutes les études analysées (exemple : âge, race, sexe, données socio-économiques pertinentes, état de la maladie, durée, sévérité ou autres maladies).</p>	<p>Oui</p> <p>Non</p> <p>Ne peut répondre</p> <p>Sans objet</p>
7	<p>La qualité scientifique des études incluses dans l'examen a-t-elle été analysée et documentée ?</p> <p>Les méthodes d'évaluation <i>a priori</i> devraient être fournies (pour les études d'efficacité si l'auteur a choisi de n'inclure que les études aléatoires, les essais à double insu, les essais comparatifs avec placebo, ou l'allocation dissimulée utilisée comme critère d'inclusion) ; pour d'autres types d'études, des éléments différents pourront être pertinents.</p>	<p>Oui</p> <p>Non</p> <p>Ne peut répondre</p> <p>Sans objet</p>
8	<p>La qualité scientifique des études incluses a-t-elle été utilisée de façon appropriée dans la formulation des conclusions ?</p> <p>Les résultats au chapitre de la rigueur méthodologique et de la qualité scientifique devraient être pris en compte dans l'analyse et les conclusions de l'examen systématique, et devraient être mentionnés explicitement dans la formulation des recommandations.</p>	<p>Oui</p> <p>Non</p> <p>Ne peut répondre</p> <p>Sans objet</p>
9	<p>Les méthodes de groupement des résultats des études étaient-elles appropriées ?</p> <p>Lorsqu'on regroupe des résultats, on devrait d'abord vérifier si les études sont combinables en appliquant un test d'homogénéité (par exemple, le test I^2 qui détermine l'homogénéité des données). S'il existe de l'hétérogénéité, on devrait utiliser un modèle d'analyse des effets aléatoires et/ou considérer la pertinence de regrouper les résultats des études (est-il approprié de les regrouper ?).</p>	<p>Oui</p> <p>Non</p> <p>Ne peut répondre</p> <p>Sans objet</p>
10	<p>A-t-on analysé la possibilité d'un biais de publication ?</p> <p>L'analyse d'un biais de publication devrait inclure des représentations graphiques (par exemple, graphique en entonnoir ou autres tests disponibles) et/ou des analyses statistiques (par exemple : le test de régression d' Egger).</p>	<p>Oui</p> <p>Non</p> <p>Ne peut répondre</p> <p>Sans objet</p>
11	<p>A-t-on déclaré les conflits d'intérêts ?</p> <p>Les sources potentielles de soutien devraient être clairement reconnues dans les examens systématiques et dans les études incluses dans ces examens.</p>	<p>Oui</p> <p>Non</p> <p>Ne peut répondre</p> <p>Sans objet</p>

D'après la grille publiée par le CCNMO (Centre de collaboration nationale des méthodes et outils), dernière mise à jour le 27 mars 2012.
<http://www.nccmt.ca/index-fra.html>

Annexe 5. Points de vue des organismes professionnels

Société française d'hygiène hospitalière (SF2H)

A) L'amplification génique

Q A1. Quelle(s) est/sont la/les meilleure(s) cible(s) pour les TAANs¹⁸ ? Gène de la toxine A et/ou gène de la toxine B ? Associé(s) ou non à d'autres gènes cibles ?

Réponse :

Les souches toxigènes de *C. difficile* produisent en très grande majorité les deux toxines simultanément. Par conséquent la mise en évidence de l'une ou l'autre traduit la présence d'une souche toxigène. La seule exception sont les souches A-B+ qui sont caractérisées par une grande délétion sur le gène *tcdA*. Néanmoins les TAANs qui ciblent ce gène détectent la partie conservée du gène.

Q A2. Ces cibles sont-elles les mêmes selon la technique, PCR ou LAMP ?

Réponse :

Les tests LAMP ciblent en général le gène de la toxine A tandis que les tests par amplification par PCR les gènes de la toxine A ou B. Les résultats des tests LAMP sont en général positifs ou négatifs sans que l'utilisateur puisse connaître l'algorithme qui a conduit à ce résultat. Les tests de PCR peuvent être interprétés en fonction des Ct.

Q A3. Y a-t-il d'autres différences à noter entre ces deux techniques ?

Réponse :

Les tests LAMP ne nécessitent pas d'investissement dans un équipement coûteux. Celui-ci est en général fourni par le fabricant.

Les tests par PCR peuvent être réalisés sur des automates, en série.

Par ailleurs, de nombreux tests multiplex permettant une approche syndromique apparaissent sur le marché. Ils dépistent une vingtaine de pathogènes digestifs bactériens (dont *C. difficile* toxigène), viraux et parasitaires. Cette problématique n'est absolument pas débattue dans le document.

Q A4. A combien estimez-vous la part des porteurs asymptomatiques de *C. difficile* toxigènes (positifs aux TAANs) parmi les patients présentant une diarrhée avec suspicion d'ICD ? Cette proportion est-elle la même s'agissant d'une diarrhée acquise en milieu communautaire ou hospitalier/établissement de soins ?

Réponse :

Il est très difficile de répondre à cette question par manque de données scientifiques solides. En milieu communautaire on estime le taux de portage de *C. difficile* toxigène à moins de 3 %. Chez des patients hospitalisés à environ 6 - 7%. Un patient porteur asymptomatique peut développer une diarrhée liée à une autre cause et il apparaîtra positif vis-à-vis de *C. difficile*, même si ce germe n'est pas à l'origine de la diarrhée.

¹⁸ TAAN : technique d'amplification des acides nucléiques ; terme englobant la PCR (*Polymerase Chain Reaction*) et la technique isothermique (*Loop mediated isothermal amplification*).

Q A5. Comment est gérée cette probabilité de résultat de TAAN positif alors que la diarrhée n'est pas liée à *C. difficile* ?

Réponse :

Les résultats bactériologiques des tests sont toujours confrontés aux données cliniques, radiologiques (épaississement de la paroi colique ? ascite ?, dilation colique ?), endoscopique (présence de pseudomembranes) ou biologiques (hyperleucocytose ?, syndrome inflammatoire ?, calprotectine ou lactoferrine fécales élevées ?)

Q A6. Existe-t-il des conditions de réalisation spécifiques pour ces TAANs (prélèvement, transport, conservation, réalisation du test en lui-même...) ?

Réponse :

Non, car les gènes de toxines sont peu soumis aux conditions de transport des selles. De plus *C. difficile* est un germe sporulé qui résiste aux conditions de transport.

Q A7. Quels sont les avantages et les inconvénients des TAANs ?

Réponse :

Avantages : une très grande sensibilité par rapport à la culture toxigénique, rapidité d'obtention du résultat. Inconvénients : un manque de spécificité (porteurs asymptomatiques), une possibilité théorique de mutation au niveau des séquences reconnues par les amorces, certains toxinotypes peuvent ne pas être détectés (toxinotype XI), une possibilité de contamination croisée par les produits d'amplification, un coût encore élevé des tests.

Q A8. Les techniques TAANs donnent-elles un résultat final qualitatif (même si le résultat brut est quantitatif) ou quantitatif ? Si le résultat est quantitatif, quelle est la signification de la charge bactérienne ?

Réponse :

Les tests de PCR peuvent donner un résultat « semi quantitatif » avec le nombre de Ct. Le nombre de Ct est corrélé à la quantité de bactéries présentes dans les selles ainsi qu'à la présence de toxines libres dans les selles (Dionne LL, J Clin Microbiol. 2013 Nov;51(11):3624-30).

Q A9. Les trois méta-analyses analysées montrent une sensibilité des TAANs autour de 0,9 par rapport au test de référence (test de cytotoxicité et/ou culture toxigénique). Or, ces tests de référence sont réputés peu sensibles. Comment expliquez-vous ces résultats ?

Réponse :

Il y a deux tests de référence dépistant deux cibles totalement différentes ; la culture toxigénique (dépistant la présence d'une souche de *C. difficile* ayant le potentiel in vitro de produire des toxines) et le test de cytotoxicité qui met en évidence les toxines A/B. Les tests de PCR doivent être comparés techniquement à la culture toxigénique puisqu'ils dépistent les mêmes cibles. La culture toxigénique est considérée comme sensible mais peu spécifique. La concordance entre les deux est très bonne en général. Une sensibilité de plus de 90% signifie que moins de 10% des selles ayant une souche toxigène seront négatives en PCR: cela peut être lié à la prise d'essai au moment du test (les selles sont hétérogènes et le *C. difficile* peut ne pas être réparti également dans cette matrice), de défaut de méthode d'extraction et de seuil de sensibilité de la méthode.

B) Techniques de détection de la GDH

Q B1. Quelle(s) est/sont la/les technique(s) validée(s) pour détecter la GDH (immuno-chromatographie, test immuno-enzymatique...) ?

Réponse :

De nombreux tests immuno-enzymatiques ou immuno-chromatographiques existent et ont un marquage CE.

Q B2. La détection de la GDH expose-t-elle à des réactions croisées avec d'autres *Clostridium* voire d'autres bactéries. Ces réactions croisées sont-elles dues au fait que cette enzyme est produite par ces autres bactéries ou bien que les techniques employées reconnaissent des GDH proches de celles produites par *C. difficile* ?

Réponse :

Habituellement les fabricants ont testé l'absence de réactions croisées avec d'autres pathogènes entériques. Par expérience (CNR *Clostridium difficile*), nous avons déjà observé à de très rares occasions des réactions croisées notamment avec *C. butyricum* (données personnelles).

Q B3. En pratique clinique, dans le cadre de la recherche d'une ICD, ces réactions croisées sont-elles un problème ?

Réponse :

Non, car la GDH est un test de dépistage. Ce qui est intéressant, c'est sa valeur prédictive négative (VPN et non sa spécificité).

Q B4. Y a-t-il des conditions de réalisation particulières pour la détection de la GDH ?

Réponse :

En général, les fabricants préconisent de réaliser le test sur selles fraîches dans les 24h ou 48 h suivant leur émission. Les selles doivent être conservées à +4°C.

Q B5. Quels sont les avantages et les inconvénients des techniques de détection de la GDH ?

Réponse :

Test très rapide (20 minutes) ayant une excellent VPN (test de screening).

Peu coûteux.

Inconvénient : ne permet pas de distinguer les souches toxigènes des souches non toxigènes.

C) Stratégie actuelle de prise en charge d'une suspicion d'ICD

Q C1. Avez-vous connaissance de recommandations existantes non citées dans le rapport ?

Réponse :

Oui,

Crobach MJ, Dekkers OM, Wilcox MH, Kuijper EJ *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): data review and recommendations for diagnosing Clostridium difficile-infection (CDI)*. Clin Microbiol Infect. 2009 Dec;15(12):1053-66. Ces recommandations ont été réactualisées en 2016 et vont prochainement être publiées Cheng AC, Ferguson JK, Richards MJ, Robson JM, Gilbert GL, McGregor A, Roberts S, Korman TM, Riley TV; *Australasian Society for Infectious Diseases Australasian Society for Infectious Diseases guidelines for the diagnosis and treatment of Clostridium difficile infection*. Med J Aust. 2011 Apr 4;194(7):353-8. Le REMIC, qui est l'ouvrage de référence français pour les laboratoires de Microbiologie (référentiel pour l'accréditation des laboratoires), n'est pas cité une seule fois...Le chapitre sur *Clostridium difficile* a été réactualisée en 2015. L'Encyclopédie médico-chirurgicale (EMC) a réactualisé son chapitre sur *Clostridium difficile* en 2015.

Q C2. Avez-vous connaissance de recommandations en cours d'élaboration ? Si oui, quelle est la date de publication prévisionnelle et présentent-elles d'autres algorithmes que ceux présentés dans les recommandations analysées ?

Réponse :

Oui les recommandations de l'ESCMID rédigées par le *European study group on Clostridium difficile*) ont été réactualisées en 2016 et vont prochainement être publiées dans CMI.

Q C3. Quelle est l'indication de recherche de *C. difficile* ? (Quelle situation clinique doit faire suspecter une ICD ?)

Réponse :

Une diarrhée d'origine infectieuse probable. La suspicion doit être très forte en cas de diarrhée post-antibiotique ou en cas de diarrhée nosocomiale mais ne doit pas se limiter à ces indications. *C. difficile* est aussi un pathogène majeur responsable de diarrhées d'origine communautaire.

Q C4. Quelle(s) est/sont la/les stratégie(s) diagnostique(s) actuellement mise(s) en œuvre pour détecter une ICD, utilisée(s) en France ? Quelle est la stratégie la plus fréquente le cas échéant ?

Réponse :

Extrait de l'article de Barbut et al., Presse Med 2015 (à propos des stratégies et méthodes de diagnostics utilisées en France) « Stratégies et méthodes diagnostiques ». Parmi les 70 laboratoires participant à l'étude, 26 (37,1 %) réalisaient la recherche de *C. difficile* uniquement sur demande spécifique du médecin. Plus de la moitié (62,9 %, 44/70) des laboratoires faisaient une recherche systématique selon des critères qui variaient d'un ES à l'autre : soit sur toutes les coprocultures (8,6 %, 6/70), soit sur toutes les selles diarrhéiques (32,9 %, 23/70), soit en cas de diarrhée nosocomiale (5,7 %, 4/70), soit en cas de diarrhée associée aux antibiotiques (15,8 %, 11/70). Les ES ont été classés en 4 catégories selon les méthodes de diagnostic utilisées par les laboratoires (Tableau 2) :

- les ES utilisant des « méthodes multiples » c'est-à-dire plusieurs méthodes simultanément sur chaque échantillon de selles; ils représentaient 15,7 % (11/70) des ES ;
- les ES utilisant une seule méthode de diagnostic (« méthode unique ») ; ils représentaient 28,6 % (20/70) des ES. Parmi ceux-ci, 50,0 % (10/20) utilisaient une méthode immuno-enzymatique pour la recherche des toxines A et B (EIA pour TcdA/B) et 4 un test combiné détectant simultanément GDH et toxines ;
- les ES utilisant un algorithme de diagnostic. Ils représentaient 52,9 % (37/70) des ES. Les tests de dépistage les plus fréquemment utilisés étaient les tests immuno-enzymatiques pour la GDH (44,7 %, 17/38) et les tests immuno-enzymatiques comprenant la GDH + les toxines A/B (26,3 %, 10/38). Le test de confirmation majoritairement utilisé était la culture toxigénique à 47,4 % (18/38).
- enfin 2,9 % (2/70) des ES ne rentraient dans aucune des catégories citées ci-dessus.

Au total, 28,6% (20/70) des ES utilisaient des méthodes de diagnostic basées uniquement sur la recherche des toxines libres dans les selles et 32,9 % (23/70) sur des méthodes reposant uniquement sur la détection de souche toxigène. Pour 38,6 % (27/70) des ES, les méthodes de diagnostic étaient basées la détection de souche toxigène et de toxine libre. Les méthodes moléculaires étaient utilisées par 25 (35,7 %) laboratoires.”

Q C5. Les techniques TAANs peuvent-elles trouver leur place dans une ou plusieurs de ces stratégies ? Laquelle ? Pourquoi ? Avantages et inconvénients ?

Réponse :

OUI, les TAANs peuvent être utilisés comme méthode de screening ou comme méthode de confirmation en cas de résultat positif en GDH et négatif en toxine par méthode EIA. L'avantage des TAANs comme méthode de dépistage est que le clinicien sait tout de suite si le patient excrète une souche toxigène et s'il faut ainsi mettre en place des précautions complémentaires contacts avec leurs spécificités pour les infections à *C. difficile*.

Q C6. Les techniques de détection de la GDH peuvent-elles trouver leur place dans une ou plusieurs de ces stratégies ? Laquelle ? Pourquoi ? Avantages et inconvénients ?

Réponse :

OUI, les techniques de dépistage de la GDH peuvent être utilisées comme méthode de screening seules ou en association avec la toxine A par méthode EIA.

Q C7. Quelle serait selon vous la stratégie à privilégier ? Pourquoi ?

Réponse :

La stratégie à privilégier dépend de l'organisation du laboratoire, des moyens dont il dispose, du flux de selles qu'il doit quotidiennement traiter. Il n'y a pas une stratégie optimale valable pour tous les labos mais plusieurs stratégies possibles en fonction des contraintes de chaque laboratoire.

D) Autres questions

Q D1. Estimez-vous que le document transmis reflète les données publiées dans la littérature ?

Veillez préciser dans le cas contraire les données non prises en compte et répondant aux critères de sélection énoncés à partir de la page du rapport provisoire.

Réponse :

Oui on pourrait insister davantage sur la signification de la mise en évidence de toxines libres dans les selles (par techniques EIA ou test de cytotoxicité) par rapport à la mise en évidence d'une souche toxigène. On pourrait citer les 2 articles suivants :

- Polage CR, Gyorke CE, Kennedy MA, et al.. *Overdiagnosis of Clostridium difficile Infection in the Molecular Test Era. JAMA Intern Med. 2015 Nov;175(11):1792-801. doi: 10.1001/jamainternmed.2015.4114;*
- Planche TD, Davies KA, Coen PG, Finney JM, Monahan IM, Morris KA, O'Connor L, Oakley SJ, Pope CF, Wren MW, Shetty NP, Crook DW, Wilcox MH. *Differences in outcome according to Clostridium difficile testing method: a prospective multicentre diagnostic validation study of C difficile infection. Lancet Infect Dis. 2013 Nov;13(11):936-45. doi: 10.1016/S1473-3099(13)70200-7. Epub 2013 Sep 3.*

Q D2. L'analyse présentée dans ce rapport vous semble-t-elle cohérente, objective et précise ?

Réponse :

Oui.

Q D3. En termes de lisibilité et de forme du rapport provisoire, avez-vous des remarques ou propositions à faire ? (NB : une relecture de correction typographique et orthographique sera effectuée, il s'agit ici de la lisibilité en termes d'articulations et de déroulé du texte).

Veillez préciser dans le cas contraire les éléments à clarifier.

Réponse :

Il est surprenant que la SFM (société française de Microbiologie) ne fasse pas partie des organismes professionnels consultés.

Q D4. Commentaires complémentaires

Réponse :

P7 : une erreur s'est glissée : la souche 027 est caractérisée par une hyperproduction de toxines due à une délétion en position 117 du gène tcdC qui entraîne un décalage du cadre de lecture et la formation d'un codon stop prématuré.

P8 : l'étude de Lynne McFarland mentionnée dans le chapitre sur le portage asymptomatique est déjà très ancienne. Nous citerions plus volontiers l'étude de V. Loo plus récente et plus large publiée dans le NEJM en 2011.

P12 : Les schémas thérapeutiques décrits par le HCSP sont dépassés. Par ailleurs la phrase commençant par « d'autres sources citent... » est inexacte. Il serait utile de citer les recommandations européennes (Debast SB, Bauer MP, Kuijper EJ; European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. *Clin Microbiol Infect.* 2014 Mar;20 Suppl 2:1-26)

P37 : Le paragraphe commençant par « si le 1er test est la GDH... » semble peu cohérent.

Conseil National Professionnel d'Hépatogastro-Entérologie (CNP-HGE)

A) L'amplification génique

Q A1. Quelle(s) est/sont la/les meilleure(s) cible(s) pour les TAANs ? Gène de la toxine A et/ou gène de la toxine B ? Associé(s) ou non à d'autres gènes cibles ?

Réponse :

Les gènes des toxines A et B.

Q A2. Ces cibles sont-elles les mêmes selon la technique, PCR ou LAMP ?

Réponse :

Les hépatogastro-entérologues n'ont pas la compétence pour répondre à cette question.

Q A3. Y a-t-il d'autres différences à noter entre ces deux techniques ?

Réponse :

Les hépatogastro-entérologues n'ont pas la compétence pour répondre à cette question.

Q A4. A combien estimez-vous la part des porteurs asymptomatiques de *C. difficile* toxinogènes (positifs aux TAANs) parmi les patients présentant une diarrhée avec suspicion d'ICD ? Cette proportion est-elle la même s'agissant d'une diarrhée acquise en milieu communautaire ou hospitalier/établissement de soins ?

Réponse :

Moins de 1 % en milieu communautaire : il y a très peu de toxines + dans groupes témoins sans diarrhée des analyses cas-témoins et les co-infections (toxines + et autre pathogène avéré) sont rares chez les cas. Ce chiffre est plus important chez les patients hospitalisés.

Q A5. Comment est gérée cette probabilité de résultat de TAAN positif alors que la diarrhée n'est pas liée à *C. difficile* ?

Réponse :

Il n'y a pas d'arbitrage idéal. Un traitement probabiliste inefficace par le métronidazole est seulement compatible avec cette hypothèse (il peut s'agir aussi d'une résistance primaire). Mais inversement, le métronidazole peut être efficace sur la diarrhée en agissant sur un agent infectieux autre que *C. difficile* (giardiose par exemple), sans que *C. difficile* ne soit pour autant en cause dans la diarrhée.

Q A6. Existe-t-il des conditions de réalisation spécifiques pour ces TAANs (prélèvement, transport, conservation, réalisation du test en lui-même...) ?

Réponse :

Les hépatogastro-entérologues n'ont pas la compétence pour répondre à cette question.

Q A7. Quels sont les avantages et les inconvénients des TAANs ?

Réponse :

Avantage : rapidité d'obtention du résultat.

Inconvénient : La positivité d'un TAAN signifie la présence de *C. difficile* potentiellement toxinogène (c'est-à-dire ayant la capacité de produire des toxines) mais ne donne pas d'information vis-à-vis de la production effective, *in vivo*, de toxines. Autrement dit, un *C. difficile* peut avoir la capacité théorique de produire des toxines (TAANs positifs) mais ne pas en produire *in vivo* dans l'intestin (et donc ne pas être responsable de la diarrhée). Plusieurs études récentes vont dans ce sens en suggérant que les TAANs seraient à l'origine d'un sur-diagnostic :

- Leffler DA, Lamont JT. *Clostridium difficile* infection. N Engl J Med 2015;372:1539-48.
- Planche TD, Davies KA, Coen PG, et al. Differences in outcome according to *Clostridium difficile* testing method: a prospective multicentre diagnostic validation study of *C difficile* infection. Lancet Infect Dis 2013;13:936-45. - Polage CR, Gyorke CE, Kennedy MA, et al. Overdiagnosis of *Clostridium difficile* Infection in the Molecular Test Era. JAMA Intern Med 2015;175:1792-801.

Q A8. Les techniques TAANs donnent-elles un résultat final qualitatif (même si le résultat brut est quantitatif) ou quantitatif ? Si le résultat est quantitatif, quelle est la signification de la charge bactérienne ?

Réponse :

Les hépato-gastro-entérologues n'ont pas la compétence pour répondre à cette question.

Q A9. Les trois méta-analyses analysées montrent une sensibilité des TAANs autour de 0,9 par rapport au test de référence (test de cytotoxicité et/ou culture toxigénique). Or, ces tests de référence sont réputés peu sensibles. Comment expliquez-vous ces résultats ?

Réponse :

La positivité d'au moins un des deux tests de référence (test de cytotoxicité et culture toxigénique) est hautement sensible, au point qu'on peut se demander s'il ne s'agit pas dans certains cas de portage asymptomatique de souches toxigènes au cours d'une diarrhée d'une autre cause. Autrement dit, on ne sait pas cliniquement quel est le gold standard et même la réponse au traitement d'épreuve par métronidazole n'est pas complètement discriminante (ce traitement peut être actif sur une diarrhée d'une autre cause (giardiose par exemple).

E) Techniques de détection de la GDH

Q B1. Quelle(s) est/sont la/les technique(s) validée(s) pour détecter la GDH (immunochromatographie, test immuno-enzymatique...)?

Réponse :

Les hépato-gastro-entérologues n'ont pas la compétence pour répondre à cette question.

Q B2. La détection de la GDH expose-t-elle à des réactions croisées avec d'autres *Clostridium* voire d'autres bactéries. Ces réactions croisées sont-elles dues au fait que cette enzyme est produite par ces autres bactéries ou bien que les techniques employées reconnaissent des GDH proches de celles produites par *C. difficile* ?

Réponse :

Les hépato-gastro-entérologues n'ont pas la compétence pour répondre à cette question.

Q B3. En pratique clinique, dans le cadre de la recherche d'une ICD, ces réactions croisées sont-elles un problème ?

Réponse :

Non, car la positivité de la GDH exige de faire secondairement la preuve de la présence des toxines de *C. difficile* ou de leurs gènes.

Q B4. Y a-t-il des conditions de réalisation particulières pour la détection de la GDH ?

Réponse :

Les hépato-gastro-entérologues n'ont pas la compétence pour répondre à cette question.

Q B5. Quels sont les avantages et les inconvénients des techniques de détection de la GDH ?

Réponse :

Avantages : rapidité et excellente VPN (mais pas de 100 %).

Inconvénients : élément de preuve de première ligne insuffisant pour affirmer la responsabilité de *C. difficile* dans une diarrhée.

B) Stratégie actuelle de prise en charge d'une suspicion d'ICD

Q C1. Avez-vous connaissance de recommandations existantes non citées dans le rapport ?

Réponse :

Les recommandations de l'ESCMID 2009 ne sont pas détaillées.

Q C2. Avez-vous connaissance de recommandations en cours d'élaboration ? Si oui, quelle est la date de publication prévisionnelle et présentent-elles d'autres algorithmes que ceux présentés dans les recommandations analysées ?

Réponse :

Les recommandations révisées de l'ESCMID (date de publication non connue).

Q C3. Quelle est l'indication de recherche de *C. difficile* ? (Quelle situation clinique doit-elle faire suspecter une ICD ?)

Réponse :

Toute diarrhée en milieu communautaire devant être explorée (persistante et sans amélioration au-delà de 3 jours malgré le traitement symptomatique ou associée d'emblée à des signes de gravité) avec ou sans antibiotiques (Hensgens CMI 2014), toute diarrhée des antibiotiques et toute diarrhée nosocomiale.

Q C4. Quelle(s) est/sont la/les stratégie(s) diagnostique(s) actuellement mise(s) en œuvre pour détecter une ICD, utilisée(s) en France ? Quelle est la stratégie la plus fréquente le cas échéant ?

Réponse :

Recherche de la preuve conjointe du germe (GDH ou culture) et des toxines ou de ses gènes, en une ou deux étapes. En cas de positivité des deux recherches, on retient le diagnostic. En cas de positivité de l'une des deux recherches avec un tableau évoquant une ICD, on retient un diagnostic probable. En cas de positivité de l'une des deux recherches sans tableau évoquant une ICD, on ne retient pas le diagnostic. En cas de négativité des deux recherches, on ne retient pas le diagnostic.

Q C5. Les techniques TAANs peuvent-elles trouver leur place dans une ou plusieurs de ces stratégies ? Laquelle ? Pourquoi ? Avantages et inconvénients ?

Réponse :

Oui, dans toutes les stratégies. Bonne VPN.

Q C6. Les techniques de détection de la GDH peuvent-elles trouver leur place dans une ou plusieurs de ces stratégies ? Laquelle ? Pourquoi ? Avantages et inconvénients ?

Réponse :

Oui dans toutes les stratégies Voir A7 pour les inconvénients.

Q C7. Quelle serait selon vous la stratégie à privilégier ? Pourquoi ?

Réponse :

En toute logique, du point de vue du clinicien ; une recherche conjointe de la GDH et de gènes de toxines par TAAN permet de ne méconnaître pratiquement aucune ICD. En cas de positivité de la cytotoxicité du filtrat de selles, l'ICD est certaine. En attendant un meilleur niveau de preuve sur la

valeur des TAANs, il semble raisonnable de privilégier une stratégie en 2 temps avec, en 1^{er} temps la recherche de GDH, et si cette recherche est positive, la réalisation d'un TAAN ou un ELISA toxine. En cas de GDH négatif mais de forte suspicion d'infection à *C. difficile*, on propose de débiter un traitement en attendant les résultats des tests de référence. En cas de discordance, un traitement d'épreuve d'attente est justifié pendant l'arbitrage : 1) si GDH+ et TAAN négatif, une culture toxinogénique fera la part entre un faux positif de la GDH et un faux négatif du TAAN ; 2) si GDH- et TAAN positive, la culture toxinogénique tranchera entre un faux négatif de la GDH et un faux positif du TAAN.

C) Autres questions

Q D1. Estimez-vous que le document transmis reflète les données publiées dans la littérature ?

Veillez préciser dans le cas contraire les données non prises en compte et répondant aux critères de sélection énoncés à partir de la page du rapport provisoire.

Réponse :

Oui dans l'ensemble.

Q D2. L'analyse présentée dans ce rapport vous semble-t-elle cohérente, objective et précise ?

Réponse :

Oui dans l'ensemble.

Q D3. En termes de lisibilité et de forme du rapport provisoire, avez-vous des remarques ou propositions à faire (NB : une relecture de correction typographique et orthographique sera effectuée, il s'agit ici de la lisibilité en termes d'articulations et de déroulé du texte) ?

Veillez préciser dans le cas contraire les éléments à clarifier.

Réponse :

Non.

Q D4. Commentaires complémentaires

Réponse :

Aucun.

Société Française de Biologie Clinique (SFBC)

A) L'amplification génique

Q A1. Quelle(s) est/sont la/les meilleure(s) cible(s) pour les TAANs ? Gène de la toxine A et/ou gène de la toxine B ? Associé(s) ou non à d'autres gènes cibles ?

Réponse :

Les souches actuellement impliquées dans les ICD produisent majoritairement les toxines A et B (A+/B+). Toutefois, de rares souches ne produisant que la toxine B peuvent également être impliquées (A-/B+). Très récemment, des souches encore plus rares, ne produisant que la toxine A (A+/B-) ou ne produisant que la toxine binaire (A-/B-) ont aussi été décrites dans certains cas d'ICD (voir aussi réponse D1).

Sur la base de ces données épidémiologiques et de la présence dans les souches A-/B+ d'un gène *tcdA* non fonctionnel, les tests détectant le gène codant la toxine B et/ou la partie conservée du gène codant la toxine A dans les souches A-/B+ sont actuellement performants pour la réalisation du diagnostic d'ICD.

Il est à noter que ceci est susceptible d'évoluer en cas de modification de l'implication relative des différents types d'isolats cités ci-dessus.

Q A2. Ces cibles sont-elles les mêmes selon la technique, PCR ou LAMP ?

Réponse :

Non. Actuellement les tests utilisant la PCR isotherme ciblent le gène *tcdA* tandis que les tests de PCR sont basés sur l'amplification du gène codant la toxine B (*tcdB*) associée ou non à l'amplification d'autres cibles (gène *cdt* codant la toxine binaire, délétions dans le gène régulateur/répresseur *tcdC*) dont la détection permet de suspecter l'implication d'un isolat de PCR-ribotype 027 qui devra faire l'objet d'une confirmation.

Q A3. Y a-t-il d'autres différences à noter entre ces deux techniques ?

Réponse :

Les techniques de PCR isotherme peuvent être réalisées dans un laboratoire ne disposant pas d'un secteur spécifiquement dédié à la biologie moléculaire et sont d'utilisation relativement simple.

Si actuellement la majorité des tests basés sur la PCR nécessite un équipement, du personnel voire des locaux dédiés, certains tests de PCR en système fermé sont d'utilisation particulièrement aisée permettant à la fois un diagnostic rapide et une suspicion de souche de PCR-ribotype 027. De plus, le développement actuel de trousse de PCR permettant des diagnostics moléculaires dits syndromiques (permettant la recherche simultanée de *C. difficile* et de plusieurs autres pathogènes digestifs) en systèmes fermés va également rendre le diagnostic par PCR accessible (mais à coût relativement élevé) à des laboratoires ne disposant pas d'un plateau technique dédié à la biologie moléculaire.

Q A4. A combien estimez-vous la part des porteurs asymptomatiques de *C. difficile* toxinogènes (positifs aux TAANs) parmi les patients présentant une diarrhée avec suspicion d'ICD ? Cette proportion est-elle la même s'agissant d'une diarrhée acquise en milieu communautaire ou hospitalier/établissement de soins ?

Réponse :

Les taux de portage asymptomatique de souches toxigènes de *Clostridium difficile* chez l'adulte sont décrits comme étant inférieurs à 3% en population générale (jusqu'à 70% chez les nourris-

sons et les enfants de moins de 2 ans) ; des taux plus élevés ont été décrits pour les patients en établissements de santé sachant que tous ne développeront pas une ICD.

Q A5. Comment est gérée cette probabilité de résultat de TAAN positif alors que la diarrhée n'est pas liée à *C. difficile* ?

Réponse :

En l'absence d'une autre étiologie pouvant expliquer la diarrhée, et sur la base d'un contexte clinique compatible, les patients sont majoritairement considérés comme ayant une ICD.

Q A6. Existe-t-il des conditions de réalisation spécifiques pour ces TAANs (prélèvement, transport, conservation, réalisation du test en lui-même...) ?

Réponse :

Ces tests ne sont validés que pour des échantillons de selles (ils ne sont donc pas validés sur les autres types d'échantillons susceptibles d'être reçus au laboratoire pour un diagnostic d'ICD : selles prélevées sur écouvillon (essentiellement chez les enfants) et biopsies (même s'il est recommandé d'éviter ces types d'échantillons).

Une conservation à +2 °C - +8 °C est habituellement recommandée par les fabricants de ces tests moléculaires ; de même une réalisation du test la plus précoce possible est préconisée ; toutefois, les échantillons peuvent être conservés environ 24h à température ambiante voire jusqu'à plusieurs jours à +2 °C - +8 °C, ce qui n'a que peu d'intérêt dans le cadre de la mise en œuvre d'un test moléculaire permettant un rendu de résultat rapide et dans le cadre des ICD nécessitant des procédures d'hygiène particulières tant que le diagnostic n'est pas infirmé.

Q A7. Quels sont les avantages et les inconvénients des TAANs ?

Réponse :

Avantages :

Rapidité de réalisation et de rendu de résultats aux cliniciens.

Sensibilité.

Pour certains tests : suspicion d'implication de la souche de PCR-ribotype 027.

Inconvénients :

Coût des tests associé à la nécessité de disposer d'un équipement spécifique et, selon le test moléculaire utilisé, de personnel voire de locaux dédiés.

Manque de spécificité (comme tous les tests moléculaires, ils permettent la détection de gènes sans préjuger de leur fonctionnalité et donc de la réelle production des toxines).

Possibilité d'inhibition de la réaction d'amplification.

Q A8. Les techniques TAANs donnent-elles un résultat final qualitatif (même si le résultat brut est quantitatif) ou quantitatif ? Si le résultat est quantitatif, quelle est la signification de la charge bactérienne ?

Réponse :

Le résultat est un résultat qualitatif même si une valeur de Ct (cycle seuil d'amplification) est fournie pour chaque amplification positive. De rares études se sont intéressées à la signification que pouvait avoir cette valeur de Ct montrant :

- une corrélation entre valeur de Ct (détection du gène codant la toxine B) et inoculum fécal de *C. difficile* : Dionne LL, Raymond F, Corbeil J, Longtin J, Gervais P, Longtin Y. *Correlation between Clostridium difficile bacterial load, commercial real-time PCR cycle thresholds, and results of diagnostic tests based on enzyme immunoassay and cell culture cytotoxicity assay. J Clin Microbiol.* 2013;51(11):3624-30.
- qu'une valeur basse de Ct (détection du gène codant la toxine B) pourrait représenter un marqueur d'évolution clinique péjorative de l'ICD : Reigadas E, Alcalá L, Valerio M, Marín M, Martín A, Bouza E. *Toxin B PCR cycle threshold as a predictor of poor outcome of Clostridium*

difficile infection: a derivation and validation cohort study. *J Antimicrob Chemother.* 2016;71(5):1380-5.

Malgré ces études, il faut, de mon point de vue, encore actuellement se garder de toute interprétation quantitative, voire pronostique, de ce type de tests dans l'attente d'études supplémentaires du fait de :

- l'impact potentiel des conditions pré-analytiques variables selon les centres (analyse dépendante de l'échantillonnage, du mode d'acheminement et de conservation des échantillons et de la performance de l'extraction sur chacun des échantillons testés), l'absence de contrôles adaptés à un test qualitatif (gamme d'étalonnage notamment, garantissant la linéarité des résultats obtenus).

Q A9. Les trois méta-analyses analysées montrent une sensibilité des TAANs autour de 0,9 par rapport au test de référence (test de cytotoxicité et/ou culture toxigénique). Or, ces tests de référence sont réputés peu sensibles. Comment expliquez-vous ces résultats ?

Réponse :

Il s'agit de distinguer quel comparateur a été utilisé, les 2 tests de référence cités n'étant pas équivalents en terme de sensibilité : le test de cytotoxicité est en effet peu sensible mais la culture toxigénique est très sensible puisque, comme pour toutes les approches par culture, une seule cellule bactérienne de *Clostridium difficile* va donner une colonie en culture qui pourra être testée pour la production de toxines.

B) Techniques de détection de la GDH

Q B1. Quelle(s) est/sont la/les technique(s) validée(s) pour détecter la GDH (immunochromatographie, test immuno-enzymatique...) ?

Réponse :

Tests immunochromatographiques, tests immuno-enzymatiques.

Q B2. La détection de la GDH expose-t-elle à des réactions croisées avec d'autres *Clostridium* voire d'autres bactéries. Ces réactions croisées sont-elles dues au fait que cette enzyme est produite par ces autres bactéries ou bien que les techniques employées reconnaissent des GDH proches de celles produites par *C. difficile* ?

Réponse :

Oui, une réaction croisée est observée avec des selles inoculées par *Staphylococcus aureus* (souche Cowan I). De même, des résultats faussement positifs peuvent être observés pour d'autres espèces de *Clostridium*.

Q B3. En pratique clinique, dans le cadre de la recherche d'une ICD, ces réactions croisées sont-elles un problème ?

Réponse :

Non, sachant qu'un test de détection de la GDH isolément positif n'est pas suffisant pour poser le diagnostic d'ICD.

Q B4. Y a-t-il des conditions de réalisation particulières pour la détection de la GDH ?

Réponse :

Comme pour les TAANs, ces tests ne sont validés que pour des échantillons de selles.

Les échantillons doivent être conservés à +2 °C - +8 °C et le test réalisé dès que possible. Une conservation est possible (plusieurs jours à +2 °C - +8 °C, jusqu'à un mois à - 20 °C).

Q B5. Quels sont les avantages et les inconvénients des techniques de détection de la GDH ?

Réponse :

Avantages :

Valeur prédictive négative très élevée autorisant l'utilisation de ces tests comme tests de première ligne ou de dépistage (et seuls tests en cas de résultat négatif) des ICD.

Sensibilité.

Rapidité.

Inconvénients :

Peu spécifique (réactions croisées décrites et détection des souches non toxigènes), ne pouvant à lui seul porter le diagnostic d'ICD : obligation de réaliser un test de détection des toxines pour définir si la souche potentiellement détectée de *C. difficile* est toxigène (pathogène) ou non toxigène (non pathogène).

C) Stratégie actuelle de prise en charge d'une suspicion d'ICD

Q C1. Avez-vous connaissance de recommandations existantes non citées dans le rapport ?

Réponse :

Un bilan des recommandations présenté par le Dr BARBUT lors des Journées nationales d'Infectiologie de Nancy en 2015 fait également état de recommandations australiennes de 2011.

Celles-ci ont été actualisées récemment (2016) : Trubiano JA, Cheng AC, Korman TM, Roder C, Campbell A, May ML, Blyth CC, Ferguson JK, Blackmore TK, Riley TV, Athan E. *Australasian Society of Infectious Diseases updated guidelines for the management of Clostridium difficile infection in adults and children in Australia and New Zealand. Intern Med J. 2016;46(4):479-93.*

Q C2. Avez-vous connaissance de recommandations en cours d'élaboration ? Si oui, quelle est la date de publication prévisionnelle et présentent-elles d'autres algorithmes que ceux présentés dans les recommandations analysées ?

Réponse :

Actualisation en cours des recommandations de l'ESCMID datant de 2009 :

Crobach MJ, Dekkers OM, Wilcox MH, Kuijper EJ. *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): data review and recommendations for diagnosing Clostridium difficile infection (CDI). ClinMicrobiol Infect. 15(12), 1053–66 (2009).*

Q C3. Quelle est l'indication de recherche de *C. difficile* ? (Quelle situation clinique doit-elle faire suspecter une ICD ?)

Réponse :

Diarrhée post-antibiotique, diarrhée associée aux soins, colite pseudo-membraneuse mais aussi toute diarrhée sans autre étiologie.

Q C4. Quelle(s) est/sont la/les stratégie(s) diagnostique(s) actuellement mise(s) en œuvre pour détecter une ICD, utilisée(s) en France ? Quelle est la stratégie la plus fréquente le cas échéant ?

Réponse :

Plusieurs algorithmes de diagnostic sont possibles (synthèse accessible sur le site de l'Institut Pasteur : https://www.pasteur.fr/.../recommandations_clostridium_difficile_france-nov2014.pdf)

Il s'agit le plus souvent d'algorithmes comportant plusieurs étapes (2 ou 3) avec :

- la recherche de la GDH dans les selles (associée ou non à la détection des toxines libres) en test de dépistage puis confirmation des résultats positifs avec un deuxième test ;
- un TAAN en test de dépistage suivi, en cas de résultat positif, par un test de détection des toxines libres.

Une étude récente montre une évolution des techniques diagnostiques utilisées dans les laboratoires (Barbut et al., 2015). Cependant, si plus de la moitié (52,9 %) des laboratoires a adopté un algorithme de diagnostic en 2 ou 3 étapes (en accord avec les recommandations européennes publiées en 2009 (Crobach et al.), le nombre de laboratoires utilisant encore une seule méthode de diagnostic basée sur un test immuno-enzymatique de détection des toxines (déconseillé selon les recommandations européennes du fait de son manque de sensibilité) était de 14,3 % (décembre 2012-juillet 2013) (voir aussi réponse D1)..

Q C5. Les techniques TAANs peuvent-elles trouver leur place dans une ou plusieurs de ces stratégies ? Laquelle ? Pourquoi ? Avantages et inconvénients ?

Réponse :

Selon les recommandations européennes, les TAANs peuvent être positionnés :

- en première ligne comme test de dépistage : ils sont suivis, en cas de résultat positif, par un test de détection des toxines libres ;
- en seconde ligne comme test de confirmation après un test de dépistage de la GDH positif.

Dans les recommandations américaines, ils peuvent également être positionnés :

- comme seul test réalisé ;
- voire en troisième ligne après un premier test de dépistage de la GDH positif et un test immuno-enzymatique de détection des toxines A/B ou un test de cytotoxicité des selles négatif.

Voir aussi réponses :

- C7 sur le positionnement des TAANs dans les stratégies optimales de diagnostic des ICD :

les techniques moléculaires sont positionnées dans les 2 algorithmes stratégiques dits optimaux et dans les 2 algorithmes dits sub-optimaux.

- A7 pour les avantages et inconvénients de ces techniques justifiant de leur positionnement dans ces algorithmes diagnostiques.

Q C6. Les techniques de détection de la GDH peuvent-elles trouver leur place dans une ou plusieurs de ces stratégies ? Laquelle ? Pourquoi ? Avantages et inconvénients ?

Réponse :

Les techniques de détection de la GDH sont uniquement positionnées en tests de dépistage :

- soit seules (elles sont alors suivies, en cas de résultat positif, par un test de détection des toxines libres, voire par une méthode moléculaire ou une culture toxigénique) ;
- soit associées à la détection des toxines libres (méthodes immuno-enzymatiques) (elles sont alors suivies, en cas de résultat positif, par une méthode moléculaire ou une culture toxigénique).

Voir aussi réponses :

- C7 sur le positionnement de la détection de la GDH dans les stratégies de diagnostic des ICD : la détection de la GDH en test de dépistage n'est considérée comme une stratégie optimale de diagnostic que si elle est réalisée simultanément avec la détection des toxines libres (et suivie d'une méthode moléculaire ou d'une culture toxigénique en cas de résultat positif). La détection de la GDH comme unique test de dépistage est considérée comme une stratégie sub-optimale de diagnostic (stratégie sensible mais moins spécifique qu'une stratégie optimale).
- B5 pour les avantages et inconvénients des tests de détection de la GDH justifiant de leur positionnement dans ces algorithmes diagnostiques.

Q C7. Quelle serait selon vous la stratégie à privilégier ? Pourquoi ?

Réponse :

Les algorithmes diagnostiques des ICD ont été catégorisés en « Optimal », « Sub-optimale » et « Incomplet » (Eckert et al. Quelles méthodes utiliser pour le diagnostic des infections à *Clostridium difficile* ? La lettre de l'infectiologue, N° 6 / déc. 2015, 218-223).

La stratégie à privilégier est donc l'une des deux stratégies qualifiées d'optimales, à savoir :

- test dépistage : méthode moléculaire, suivi d'un test de confirmation : détection des toxines libres ;
- test de dépistage : GDH et détection des toxines, suivi d'un test de confirmation : méthode moléculaire ou culture toxigénique.

Ces 2 algorithmes, comprenant deux étapes, sont à la fois sensibles et spécifiques car ils permettent la détection des toxines libres et d'une souche toxigène ou des gènes codant les toxines.

F) Autres questions

Q D.1. Estimez-vous que le document transmis reflète les données publiées dans la littérature ?

Veillez préciser dans le cas contraire les données non prises en compte et répondant aux critères de sélection énoncés à partir de la page du rapport provisoire.

Réponse :

Oui. Je propose d'ajouter des informations relatives à :

- la détection, dans de rares cas d'ICD, de souches non productrices des toxines A et B mais productrices de la toxine binaire (rares mais à citer tout comme les isolats rares A-/B+ ou A+/B) (Eckert C, Emirian A, Le Monnier A, Cathala L, De Montclos H, Goret J, Berger P, Petit A, De Chevigny A, Jean-Pierre H, Nebbad B, Camiade S, Meckenstock R, Lalande V, Marchandin H, Barbut F. *Prevalence and pathogenicity of binary toxin-positive Clostridium difficile strains that do not produce toxins A and B. New Microbes New Infect. 2014;3:12-7*).
- la sous-détection majeure actuelle dans notre pays : une modification de la nomenclature des actes de biologie moléculaire réalisés pour le diagnostic d'ICD pourrait en partie contribuer à une amélioration de la détection en incitant certains laboratoires à modifier leurs algorithmes de diagnostic des ICD (Barbut F, Ramé L, Petit A, Suzon L, de Chevigny A, Eckert C; pour le réseau français EUCLID. *Prevalence of Clostridium difficile infection in hospitalized patients with diarrhea: results of a French prospective multicenter bi-annual point prevalence study*. Presse Med. 2015;44(4 Pt 1):e75-83.).
- la catégorisation des stratégies diagnostiques en « Optimales », « Sub-optimales » et « Incomplètes » (Eckert C, Marchandin H, Lemée L, Bouvet P, Cavalié L, Jean-Pierre H, Popoff MR, Barbut F. Quelles méthodes utiliser pour le diagnostic des infections à *Clostridium difficile* ? La lettre de l'infectiologue N° 6 / déc. 2015, 218-223).

Q D2. L'analyse présentée dans ce rapport vous semble-t-elle cohérente, objective et précise ?

Réponse :

Oui.

Q D3. En termes de lisibilité et de forme du rapport provisoire, avez-vous des remarques ou propositions à faire (NB : une relecture de correction typographique et orthographique sera effectuée, il s'agit ici de la lisibilité en termes d'articulations et de déroulé du texte) ?

Veillez préciser dans le cas contraire les éléments à clarifier.

Réponse :

Oui.

Q D4. Commentaires complémentaires

Réponse :

Aucun - Quelques annotations ont été effectuées dans le document transmis pour relecture.

Annexe 6. Liste des tableaux et figures

Tableau 1. Stratégie de recherche bibliographique.....	15
Tableau 2. Présentation des méta-analyses analysées.....	20
Tableau 3. Grille d'évaluation AMSTAR : méta-analyses	24
Tableau 4. Présentation de l'HTA.....	27
Tableau 5. Grilles INAHTA	28
Tableau 6. Présentation des recommandations analysées.....	32
Tableau 7. Stratégie de recherche dans la base de données <i>Medline</i>	46
Figure 1. Diagramme de sélection des références bibliographiques analysées	16

Références

1. Haute Autorité de Santé. Modification de la Nomenclature des actes de biologie médicale pour les actes de diagnostic biologique des infections à *Clostridium difficile*. Feuille de route. Saint-Denis La Plaine: HAS; 2016.
http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2016-02/fdr_clostridium_vd.pdf
2. Barbut F, Beaugerie L, Eckert C. *Clostridium difficile* et pathologie digestive. *Encycl Med Chir Maladies infectieuses* 2015;(8-038-H-20).
3. Monot M, Eckert C, Lemire A, Hamiot A, Dubois T, Tessier C, et al. *Clostridium difficile*: New Insights into the Evolution of the Pathogenicity Locus. *Sci Rep* 2015;5:15023.
4. Eckert C, Marchandin H, Lemée L, Bouvet P, Cavalier L, Popoff M, et al. Quelles méthodes utiliser pour le diagnostic des infections à *Clostridium difficile* ? *La Lettre de l'Infectiologie* 2015;(6):218-23.
5. Kuijper E, van den Berg R, Debast S, Visser C, Veenendaal D, Troelstra A, et al. *Clostridium difficile* ribotype 027, toxinotype III, the Netherlands. *Emerg Infect Dis* 2006;12(5):827-30.
6. Institut de veille sanitaire. Infections à *Clostridium difficile* : situation épidémiologique, France, juillet 2009-juin 2010. Bilan au 30 août 2010. Saint-Maurice: INVS; 2012.
<http://www.invs.sante.fr/fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Infections-associees-aux-soins/Surveillance-des-infections-associees-aux-soins-IAS/Clostridium-difficile-CD/Infections-a-Clostridium-difficile-situation-epidemiologique-France-juillet-2009-juin-2010.-Bilan-au-30-aout-2010>
7. Surawicz CM, Brandt LJ, Binion DG, Ananthakrishnan AN, Curry SR, Gilligan PH, et al. Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* infections. *Am J Gastroenterol* 2013;108(4):478-98; quiz 99.
8. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Crobach MJ, Dekkers OM, Wilcox MH, Kuijper EJ. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): data review and recommendations for diagnosing *Clostridium difficile*-infection (CDI). *Clin Microbiol Infect* 2009;15(12):1053-66.
9. Haut conseil de la santé publique. Maîtrise de la diffusion des ICD dans les établissements de santé français. Paris: HCSP; 2008.
<http://www.hcsp.fr/Explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=32>
10. Miller AC, Polgreen LA, Cavanaugh JE, Polgreen PM. Hospital *Clostridium difficile* Infection Rates and Prediction of Length of Stay in Patients Without *C. difficile* Infection. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2016;37(4):404-10.
11. McFarland LV, Mulligan ME, Kwok RY, Stamm WE. Nosocomial acquisition of *Clostridium difficile* infection. *N Engl J Med* 1989;320(4):204-10.
12. Loo VG, Bourgault AM, Poirier L, Lamothe F, Michaud S, Turgeon N, et al. Host and pathogen factors for *Clostridium difficile* infection and colonization. *N Engl J Med* 2011;365(18):1693-703.
13. Eckert C, Lalande V, Barbut F. Diagnostic des infections à *Clostridium difficile*. *Journal des Anti-Infectieux* 2011;13(2):67-73.
14. Pilly E. *Maladies infectieuses et tropicales*. Paris: Cmit Alinea Plus; 2016.
15. Blanche J, Goret J, Megraud F. *Clostridium difficile* Infection: A Model for Disruption of the Gut Microbiota Equilibrium. *Dig Dis* 2016;34(3):217-20.
16. Institut de veille sanitaire. Conduite à tenir : diagnostic, investigation, surveillance, et principes de prévention et de maîtrise des infections à *Clostridium difficile*. Saint-Maurice: INVS; 2006.
http://www.invs.sante.fr/publications/2006/guide_raisin/conduite_clostridium_difficile.pdf
17. Buysse S, Azoulay E, Barbut F, Schlemmer B. Infection à *Clostridium difficile* : physiopathologie, diagnostic et traitement. *Réanimation* 2005;14:255-63.
18. Blanckaert K, Coignard B, Grandbastien B, Astagneau P, Barbut F. Actualités sur les infections à *Clostridium difficile*. *Rev Med Interne* 2008;29(3):209-14.
19. Olson MM, Shanholtzer CJ, Lee JT, Jr., Gerding DN. Ten years of prospective *Clostridium difficile*-associated disease surveillance and treatment at the Minneapolis VA Medical Center, 1982-1991. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1994;15(6):371-81.
20. Miller MA, Hyland M, Ofner-Agostini M, Gourdeau M, Ishak M. Morbidity, mortality, and healthcare burden of nosocomial *Clostridium difficile*-associated diarrhea in Canadian hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2002;23(3):137-40.
21. McFarland LV, Elmer GW, Surawicz CM. Breaking the cycle: treatment strategies for 163 cases of recurrent *Clostridium difficile* disease. *Am J Gastroenterol* 2002;97(7):1769-75.
22. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Debast SB, Bauer MP, Kuijper EJ. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the treatment guidance document for *Clostridium difficile* infection. *Clin Microbiol Infect* 2014;20 Suppl 2:1-26.
23. American Society for Microbiology. A Practical Guidance Document for the Laboratory Detection of Toxigenic *Clostridium difficile* September 21, 2010 : ASM; 2010.

http://www.apic.org/Resource/TinyMceFileManager/Practice_Guidance/cdiff/ASM_Guidance_for_Laboratory_Detection.pdf

24. Hôpitaux universitaires est parisien, Université Pierre-et-Marie-Curie. Infections à *Clostridium difficile*: recommandations pour le diagnostic et l'expertise des souches [En ligne] 2014.

https://www.pasteur.fr/sites/www.pasteur.fr/files/recom_mandations_clostridium_difficile_france-nov2014.pdf

25. Dubberke ER, Burnham CA. Diagnosis of *Clostridium difficile* Infection: Treat the Patient, Not the Test. *JAMA Intern Med* 2015;175(11):1801-2.

26. Polage CR, Gyorke CE, Kennedy MA, Leslie JL, Chin DL, Wang S, et al. Overdiagnosis of *Clostridium difficile* Infection in the Molecular Test Era. *JAMA Intern Med* 2015;175(11):1792-801.

27. Planche TD, Davies KA, Coen PG, Finney JM, Monahan IM, Morris KA, et al. Differences in outcome according to *Clostridium difficile* testing method: a prospective multicentre diagnostic validation study of *C difficile* infection. *Lancet Infect Dis* 2013;13(11):936-45.

28. Deshpande A, Pasupuleti V, Rolston DD, Jain A, Deshpande N, Pant C, et al. Diagnostic accuracy of real-time polymerase chain reaction in detection of *Clostridium difficile* in the stool samples of patients with suspected *Clostridium difficile* Infection: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2011;53(7):e81-90.

29. O'Horo JC, Jones A, Sternke M, Harper C, Safdar N. Molecular techniques for diagnosis of *Clostridium difficile* infection: systematic review and meta-analysis. *Mayo Clin Proc* 2012;87(7):643-51.

30. Wei C, Wen-En L, Yang-Ming L, Shan L, Yi-Ming Z. Diagnostic accuracy of loop-mediated isothermal amplification in detection of *Clostridium difficile* in stool

samples: a meta-analysis. *Arch Med Sci* 2015;11(5):927-36.

31. Agency for Healthcare Research and Quality. Effectiveness of early diagnosis, prevention, and treatment of *Clostridium difficile* infection. Rockville: AHRQ; 2011.

32. Society for Healthcare Epidemiology of America, Infectious Diseases Society of America, Cohen S, Gerding D, Johnson S, Kelly C, et al. 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). *Infect Control Hosp Epidemiol* 2010;31(5):431-55.

33. National Health Service. Updated Guidance on the diagnosis and reporting of *Clostridium difficile*. London: NHS; 2012.

https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/215135/dh_133016.pdf

34. Ireland Department Health. Surveillance, Diagnosis and Management of *Clostridium difficile* Infection in Ireland. Dublin: DH; 2014.

<http://www.hpsc.ie/A-Z/Gastroenteric/Clostridiumdifficile/Guidelines/File.13950.en.pdf>

35. National Health Service. *Clostridium difficile* toxin detection assays. London: NHS; 2009.

https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/216192/dh_127743.pdf

36. Barbut F, Ramé L, Petit A, Suzon L, De Chevigny A, Eckert C. Prévalence des infections à *Clostridium difficile* chez les patients hospitalisés avec une diarrhée : résultats d'une étude française prospective multicentrique. *Presse Med* 2015;44(4 Pt 1):e75-83.

Fiche descriptive

Intitulé	Descriptif
Méthode de travail	Evaluation d'une technologie de santé
Date de mise en ligne	Juillet 2016
Date d'édition	Uniquement disponible sous format électronique sur www.has-sante.fr
Objectif(s)	Evaluer la recherche de <i>C. difficile</i> par un test d'amplification des acides nucléiques (TAAN) ou par détection de la glutamate déshydrogénase (GDH), en réalisant une analyse critique des données de la littérature synthétique identifiées suite à une recherche documentaire systématique, et en recueillant la position actuelle des professionnels concernés.
Professionnel(s) concerné(s)	Cf. chapitre 2.3.1
Demandeur	Caisse nationale d'assurance maladie des travailleurs salariés (CNAMTS)
Promoteur	Haute Autorité de santé (HAS), service évaluation des actes professionnels (SEAP)
Pilotage du projet	Coordination : Alicia AMIGOU, chef de projet, SEAP (chef de service : Michèle MORIN-SURROCA, adjoint au chef de service : Denis-Jean DAVID) Secrétariat : Lina BISCOSI, assistante, SEAP
Participants	Expertise externe à la HAS : Cf. Chapitre 2.3.1
Recherche documentaire	De novembre 2015 à mai 2016 (stratégie de recherche documentaire décrite en Annexe 3) Réalisée par Marie GEORGET, documentaliste, avec l'aide de Yasmine LOMBRY, assistante documentaliste, sous la responsabilité de Frédérique PAGES, chef du service documentation - veille, et Christine DEVAUD, adjointe au chef de service
Auteurs de l'argumentaire	Alicia AMIGOU, chef de projet, SEAP, sous la responsabilité de Denis-Jean DAVID, adjoint au chef de service, SEAP
Validation	Collège de la HAS : juillet 2016
Autres formats	Pas d'autre format que le format électronique disponible sur www.has-sante.fr
Documents d'accompagnement	Feuille de route (février 2016), avis HAS (juillet 2016) disponibles sur www.has-sante.fr

~



Toutes les publications de la HAS sont téléchargeables sur
www.has-sante.fr