

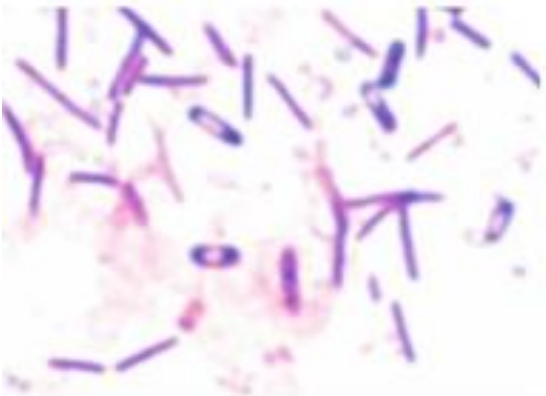
Master 1 Science du médicament

Physiopathologie des infections à *Clostridium difficile*

Dr Louise Ruffier d'Epenoux
Assistante Hospitalo Universitaire – CHU Nantes
louise.ruffierdepenoux@chu-nantes.fr

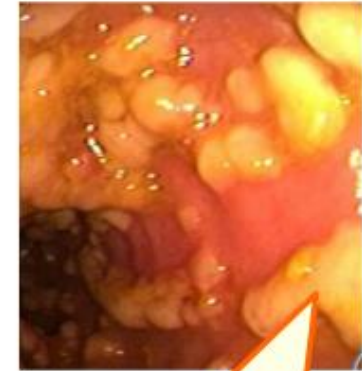
Clostridium difficile

- Bacille à Gram positif, anaérobie strict, sporulé, produit des toxines :
 - Toxine A
 - Toxine B
 - +/- Toxine binaire



Clostridium difficile

- *Manifestations cliniques variées*
 - Portage asymptomatique
 - Diarrhées aqueuses post antibiotiques
 - Colites pseudomembraneuses post antibio
 - Atteinte colon rectum
 - Lésions aphtoïdes de la muqueuse
 - Fausses membranes fibrineuses adhérentes



Les pseudomembranes sont constituées de fibrine, mucus, débris cellulaires et PNN

Figure 3 : aspect endoscopique d'une colite pseudomembraneuse



muqueuse colique recouverte de plaques surélevées jaunâtres (pseudomembranes)

Clostridium difficile

- 2 complications majeures :
 - Mégacôlon toxique, perforation, choc septique (< 10%)
 - Récidives : $\approx 25\%$
 - Réapparition de l'infection à *Clostridium difficile* dans les 8 semaines suivant un précédent épisode résolutif sous traitement
- Infections associées aux soins ++ :
 - Cas sporadiques
 - Petites épidémies
- Infections communautaires en hausse
 - $\approx 25\%$ des cas (sans doute sous estimées)

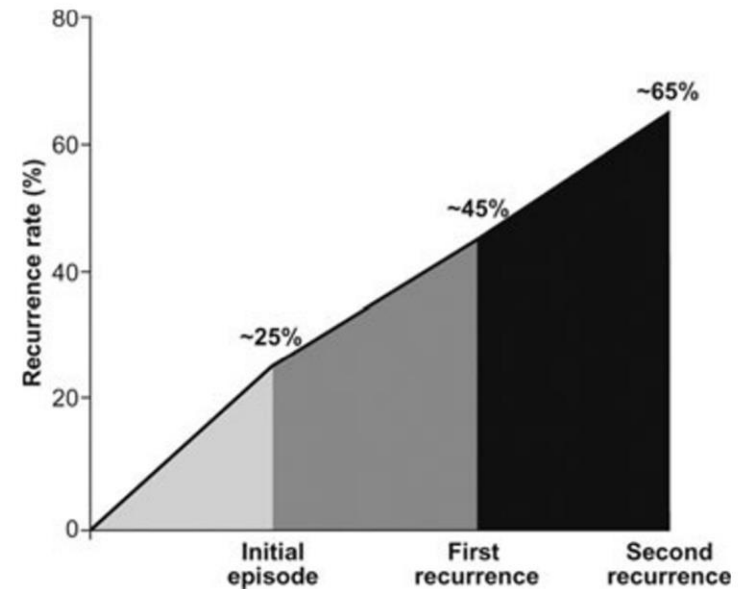


FIG. 2. Frequency of recurrent *Clostridium difficile* infection (CDI) following an initial episode and first and second recurrence [4,12,13,28,29].

Poids des ICD en Europe et aux USA

• Etats-Unis



- 453 000 ICD/an¹
(IC 95% 397 100 – 508 500, HA et CO, HA ≥ 4 j, tous ES)
- 29 300 décès
- 1^{er} agent responsable d'IAS (12,5%)²
- Menace urgente (CDC)

• Europe



- 124 000 ICD/an
(IC 95% 61 000 – 285 000, HA=GDI ≥ 3 j, ES court séjour)
- Mortalité attribuable: 3%
(3 700 décès attrib./an)
- 8ème agent responsable d'IAS (5,4%)³

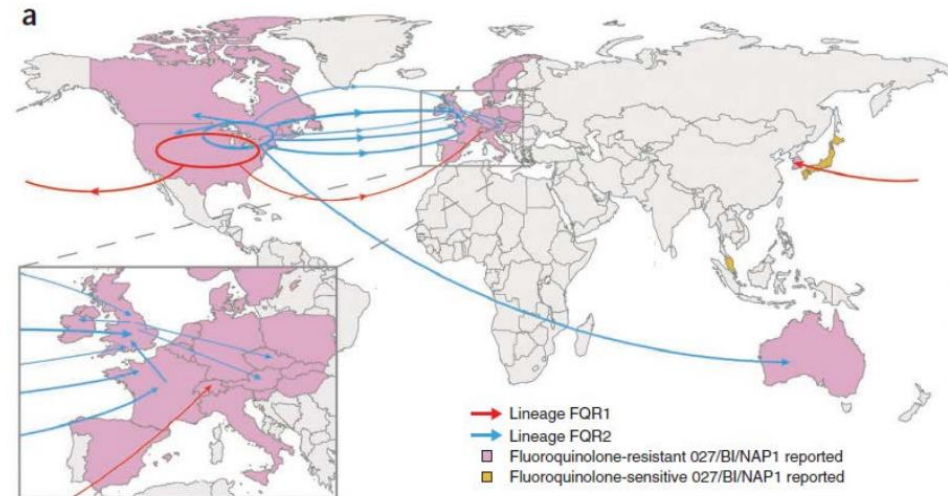
6ème agent responsable d'IAS (2016-17 European point prevalence study)

¹Lessa, NEJM 2015, 372, 825; ²Magill SS, ³<http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/publications/healthcare-associated-infection>



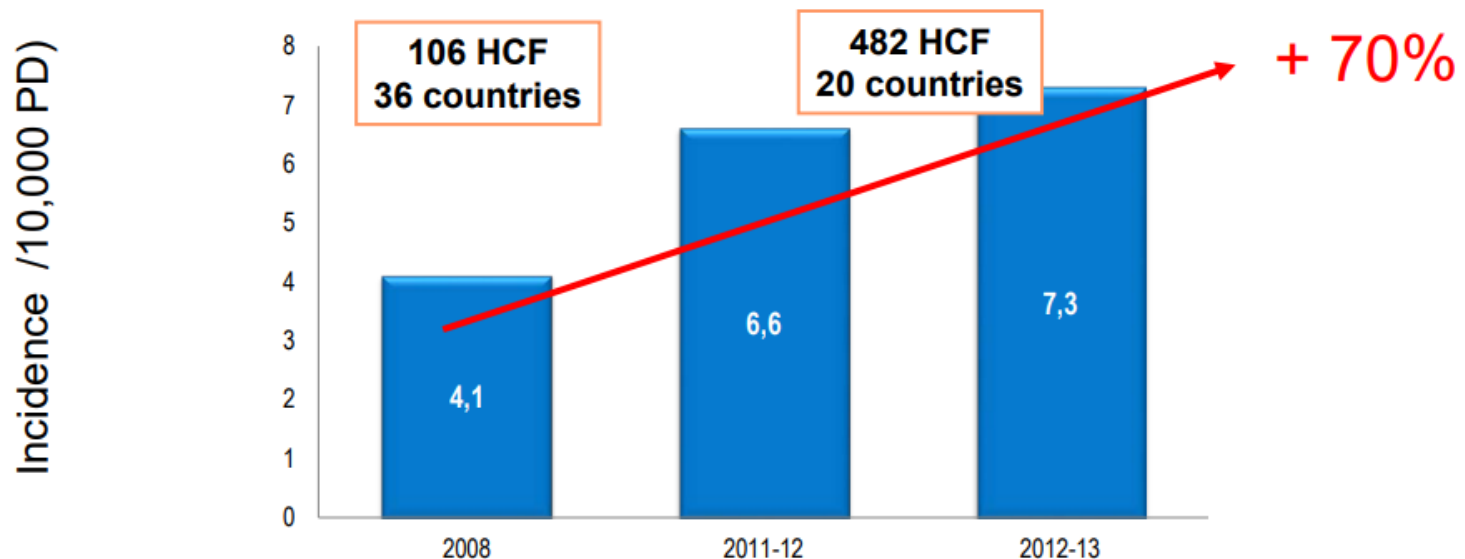
2003-2010 : Epidémiologie des ICD

- *2003 : Emergence de la lignée NAPI- 027 en Amérique du Nord :*
 - Incidence en hausse, épidémies plus fréquentes, atteinte de population précédemment à faible risque, augmentation de la sévérité des ICD
 - Point de départ Canada/ USA → diffusion en Europe
 - Souche hypervirulente :
 - Hyperproducteur de toxine A et B
 - Résistance fluoroquinolone et erythromycine



Evolution de l'incidence des ICD

- *Augmentation de l'incidence dans de nombreux pays* ^{1-4, 6-7}:
 - Meilleure sensibilisation au diagnostic
 - Amélioration des techniques diagnostiques (PCR)
 - Diffusion du clone 027



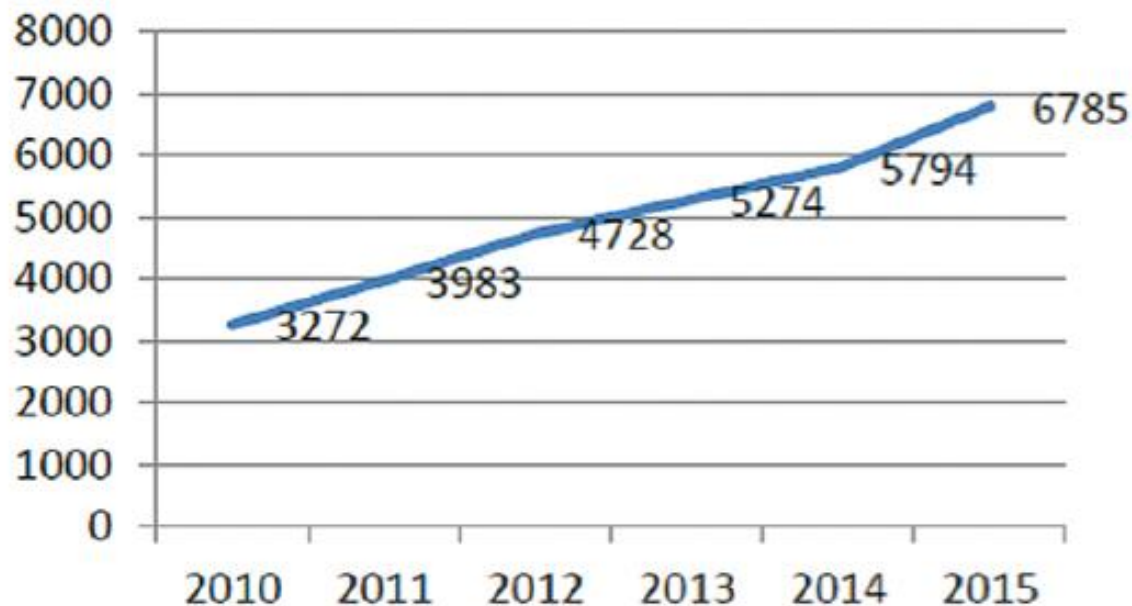
18^{es} JNI, Saint-Malo, du 21 au 23
juin 2017

1. Lyytikäinen et al. Emerg Infect Dis 2009;15:761-5;
2. Søres et al. Euro Surveill 2009;14:pii19176;
3. Soler et al. Infect Control Hosp Epidemiol 2008;29:887-9;

4. Vonberg et al. Emerg Infect Dis 2007;13:179-80;
- 6- Bauer et al. Lancet 2011;377:63-73.
7. Davies, Lancet Inf. Dis 2014, 14, 1208-19

Evolution de l'incidence des ICD en France

- *Augmentation de l'incidence en France*, base nationale de PMSI (Programme de Médicalisation des Systèmes d'information)
 - 2010 et 2015, le nombre de séjours pour ICD a doublé : 3300/ an vs 6800/ an



Mode de transmission

A l'hôpital

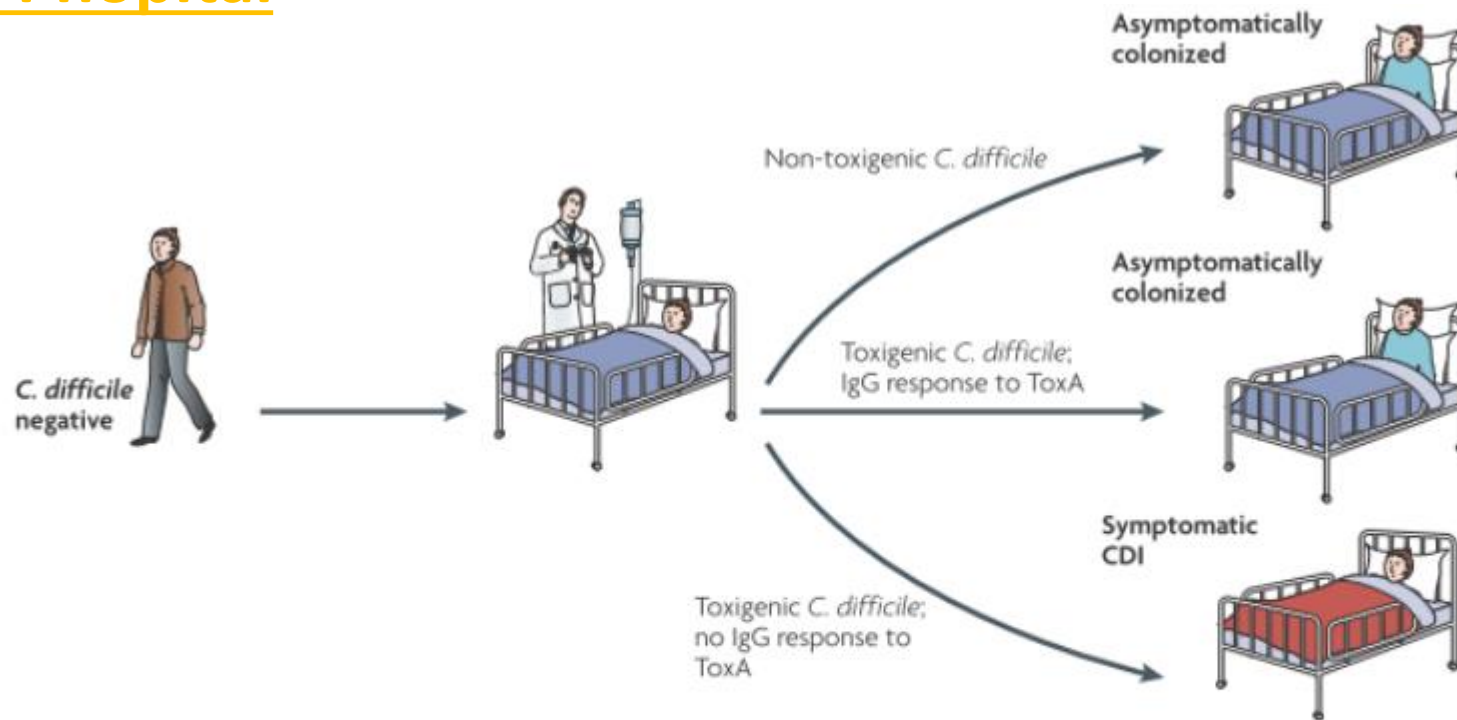
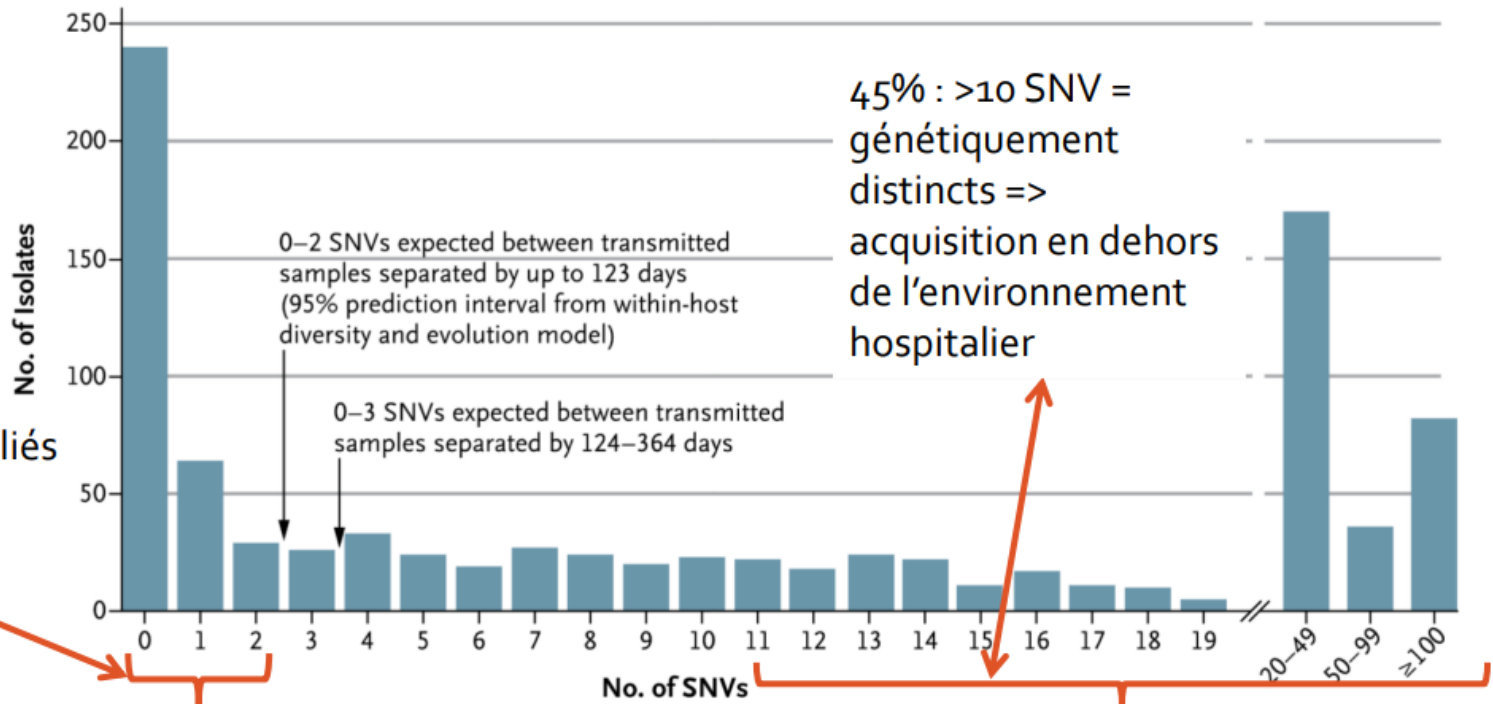


Figure 1 | **Model for the acquisition of *Clostridium difficile* infection (CDI).** Patients are exposed to *C. difficile* spores through contact with the hospital environment or health care workers. After taking an antibiotic, they develop CDI if they acquire a toxigenic *C. difficile* strain and fail to mount an anamnestic serum immunoglobulin G (IgG) antibody response to toxin A (ToxA; also known as TcdA)⁶⁴; if they can mount an antibody response they become asymptotically colonized with *C. difficile*. If they acquire a non-toxigenic *C. difficile* strain, they also become asymptotically colonized. Colonized patients have been shown to be protected from CDI¹²⁶.

Mode de transmission

Nosocomial ?

À SNVs between Each Case and the Genetically Closest Previous Case



33% : ≤ 2 SNV =
génétiquement liés
=> transmission
entre patients

45% : > 10 SNV =
génétiquement
distincts =>
acquisition en dehors
de l'environnement
hospitalier

Acquisition possible en communautaire

Mode de transmission

Sources d'acquisition en communautaire?

Table 2 Incidence of *Clostridium difficile* in meat, vegetables and seafood

Product	Country	% Positive for <i>C. difficile</i>	% Toxigenic	Source
Ground beef	Canada	6.1	80.0	Visser et al. (2012)
Ground beef	Canada	12.2	100	Weese et al. (2009)
Ground veal	USA	8.0	Not tested	Houser et al. (2012)
Ground pork	USA	<1	0.3	Mooyottu et al. (2015)
Ground pork	USA	9.5	100	Harvey et al. (2011)
Chicken meat	USA	44.4	100	Songer et al. (2009)
Chicken meat	Canada	12.5	100	Weese et al. (2010b)
Processed vegetables	Canada	4.5	100	Metcalfe et al. (2010)
Raw vegetables	UK	2.3	71.4	Bakri et al. (2009)
Leafy greens	Iran	5.7	16.6	Yamoudy et al. (2015)
Lettuce	USA	4.6	100	Rodriguez-Palacios et al. (2014)
Lettuce	USA	13.8	100	Han (2016)
Lettuce	France	2.9	100	Eckert et al. (2013)
Molluscs	Italy	3.9	2	Troiano et al. (2015)
Shellfish	USA	4.5	100	Norman et al. (2014)
Seafood (general)	Canada	4.8	100	Metcalfe et al. (2011)

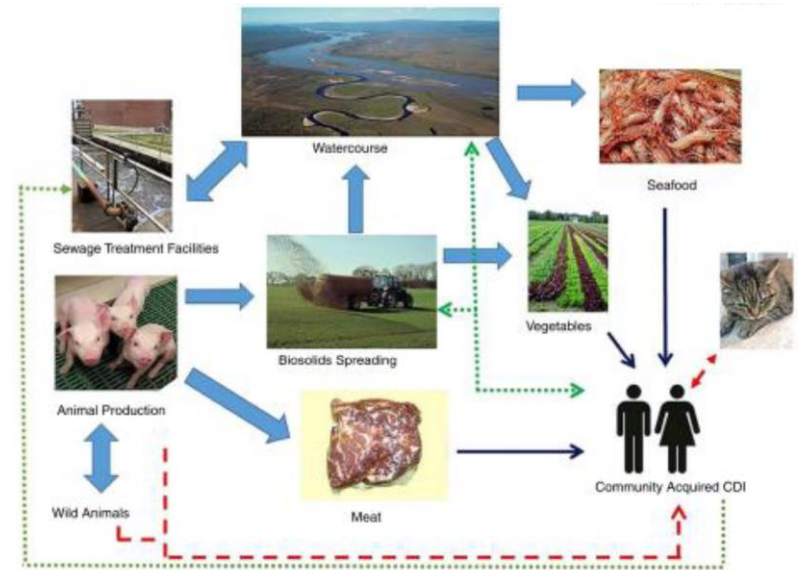


Figure 1 The cycling and recycling of *Clostridium difficile* from zoonotic (---), environmental (---) or foodborne (—) sources implicated in community-associated infections. The main incubators for *C. difficile* are animal production and general population. *Clostridium difficile* associated with animals can contaminate meat during processing and survive up to the point of consumption. Manure produced in animal production can contaminate crops directly or leach into irrigation water or watersheds. Treated sewage effluent and biosolids disposed in the environment can contaminate crops and seafood when released into estuaries. In addition, potential zoonotic transfer from animals to humans and vice versa can occur to further disseminate *C. difficile*. [Colour figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com].

De la transmission à l'infection

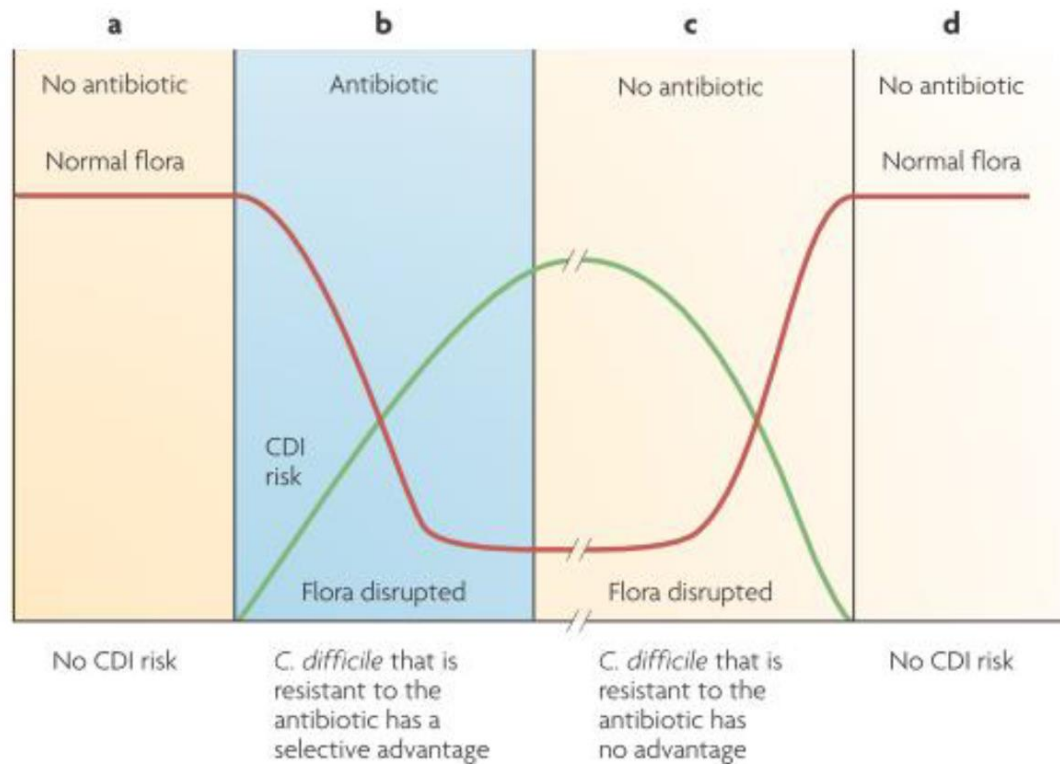
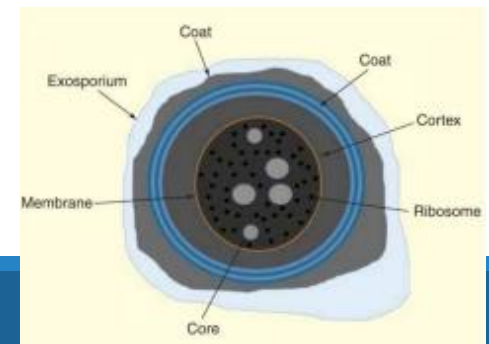
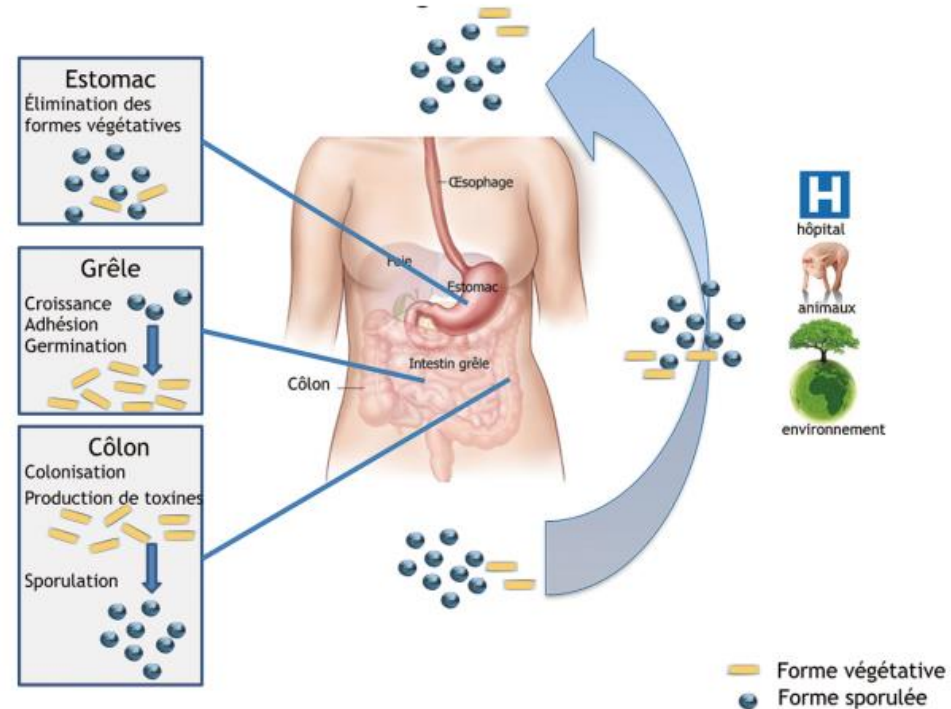


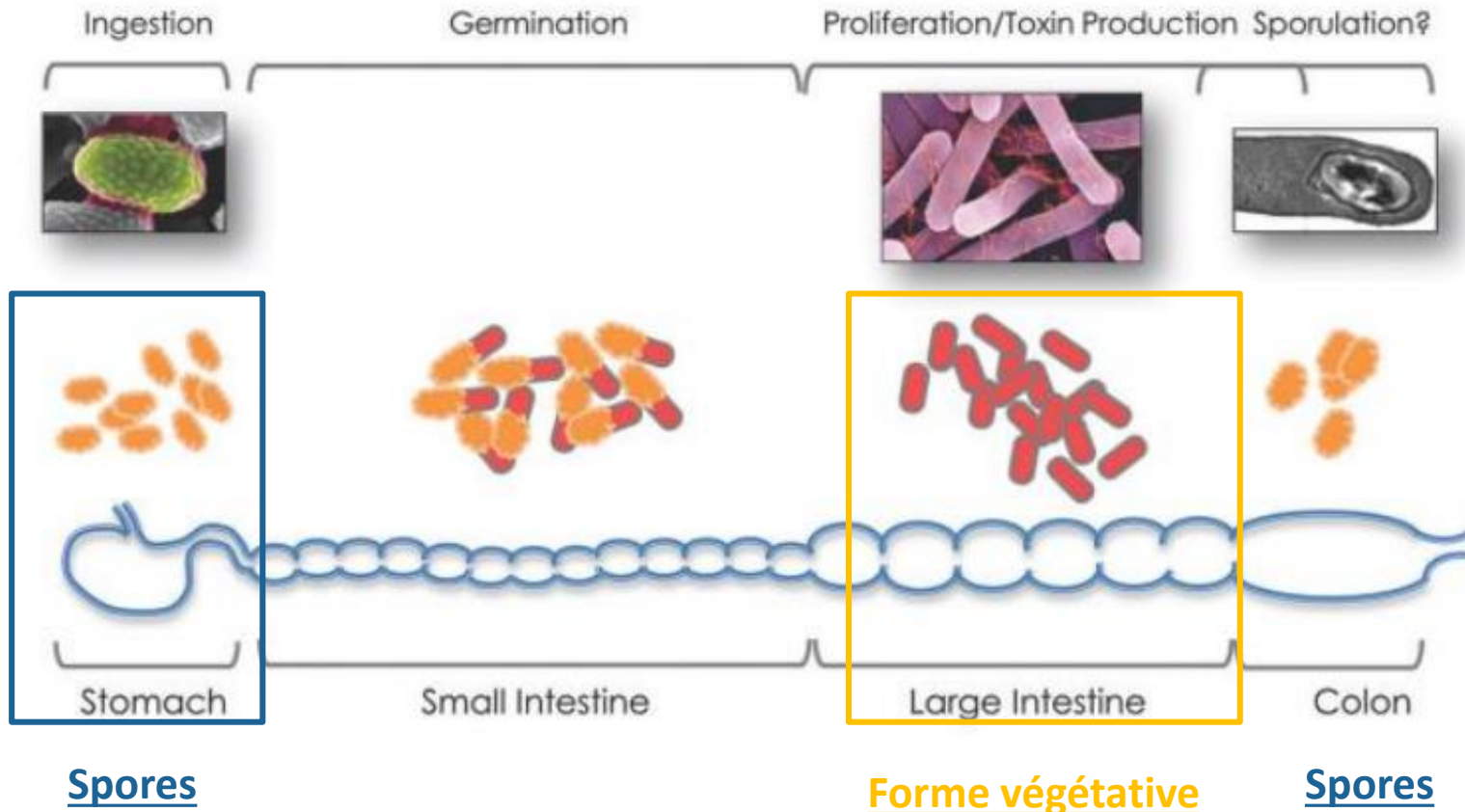
Figure 2 | **The effect of antibiotics on the normal gut flora and the risk of *Clostridium difficile* infection (CDI).** Patients are resistant to CDI if their normal gut flora is not disrupted by antibiotics (a). Once antibiotic treatment starts, infection with a *C. difficile* strain that is resistant to the antibiotic is more likely while the antibiotic is being administered owing to the presence of the antibiotic in the gut (b). When the antibiotic treatment stops, the levels of the antibiotic in the gut diminish rapidly, but the microflora remains disrupted for a variable period of time (indicated by the break in the graph), depending on the antibiotic given (c). During this time, patients can be infected with either resistant or susceptible *C. difficile*. Finally, after the microflora recovers, colonization resistance to *C. difficile* is restored (d).

Importance des spores de *C. difficile*

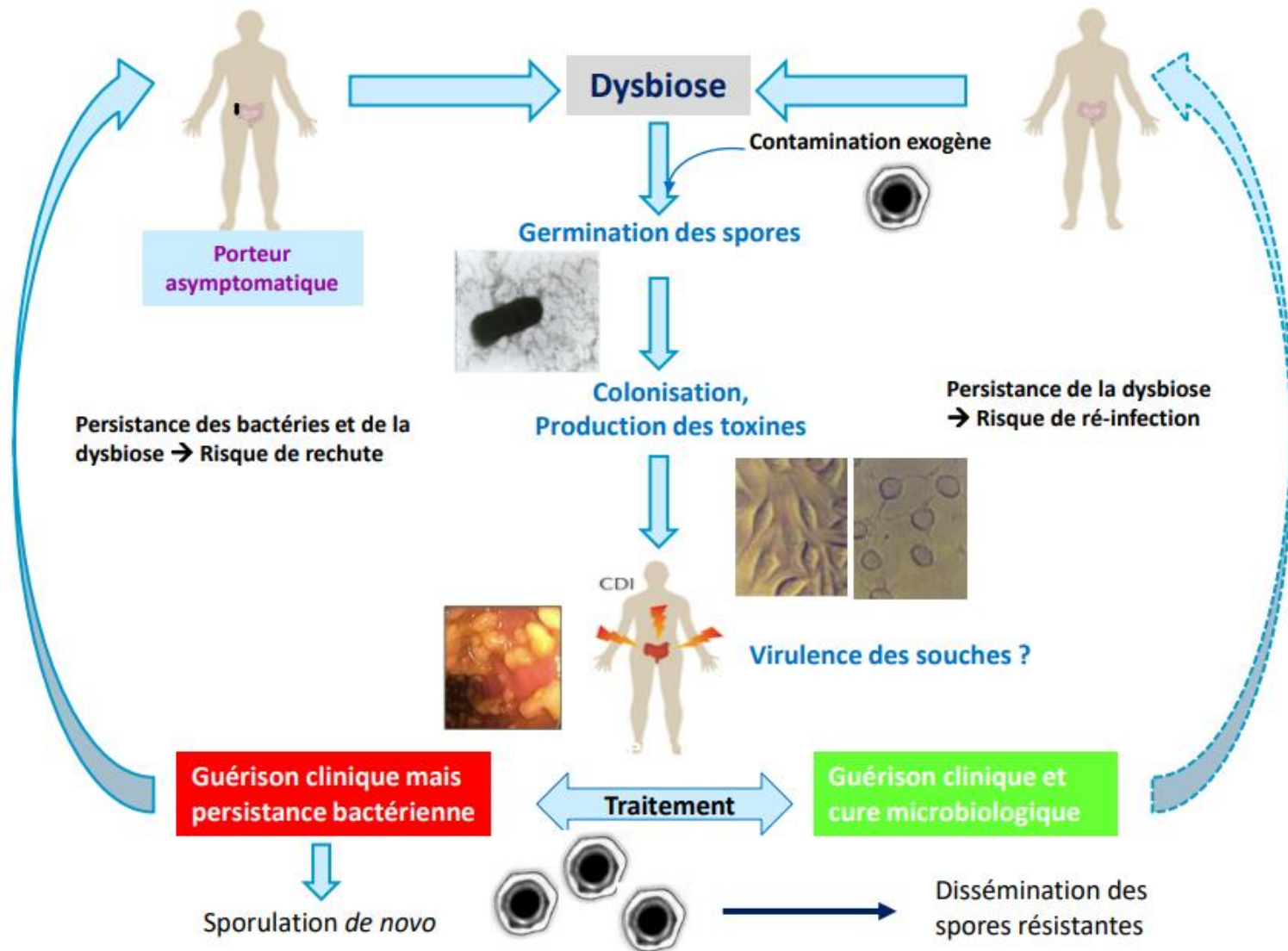
- Forme responsable de la transmission
- Grande résistance : dessiccation, O₂, températures extrêmes, désinfectants, acidité gastrique....)
- Peuvent persister plusieurs mois voire années dans environnement
- Conditions environnementales favorables : germination et croissance sous forme végétative



Le modèle de pathogénèse des ICD

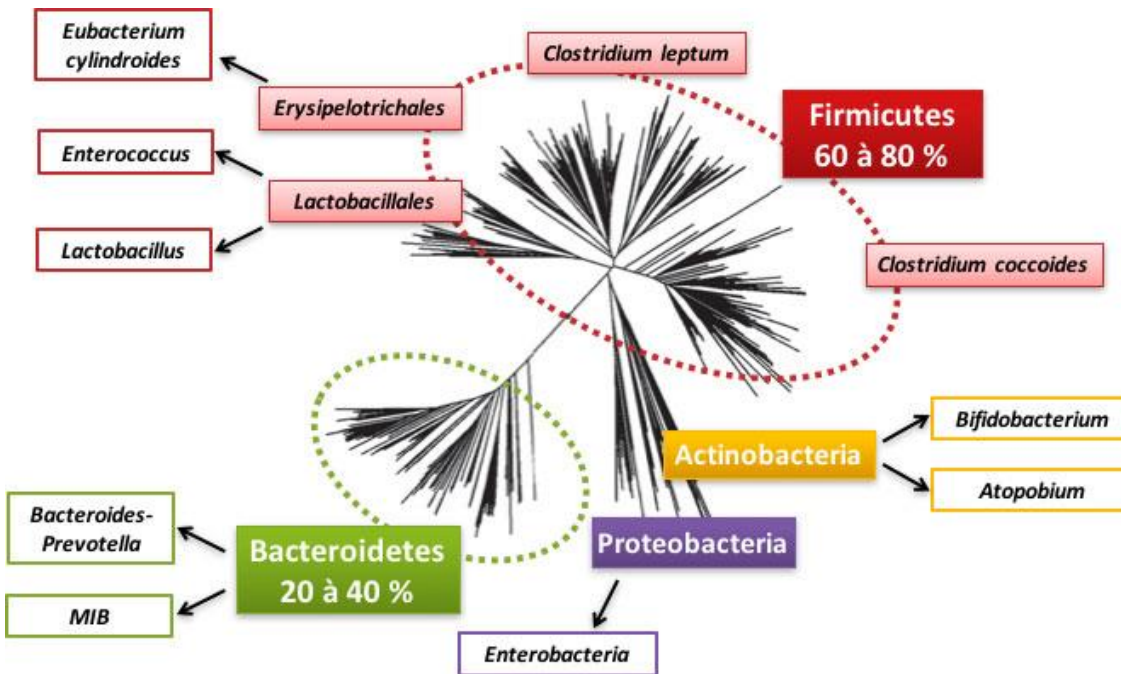


Le modèle de pathogenèse des ICD



Dysbiose et infection à *C. difficile* ?

Composition du microbiote colique sain



- Composition variable entre les individus
- Noyau phylogénétique commun (≈ 60 espèces)
- Fonctionnalité conservée

Effet barrière vis-à-vis des pathogènes



Toute altération de la composition du microbiote peut entraîner une diminution de l'effet barrière

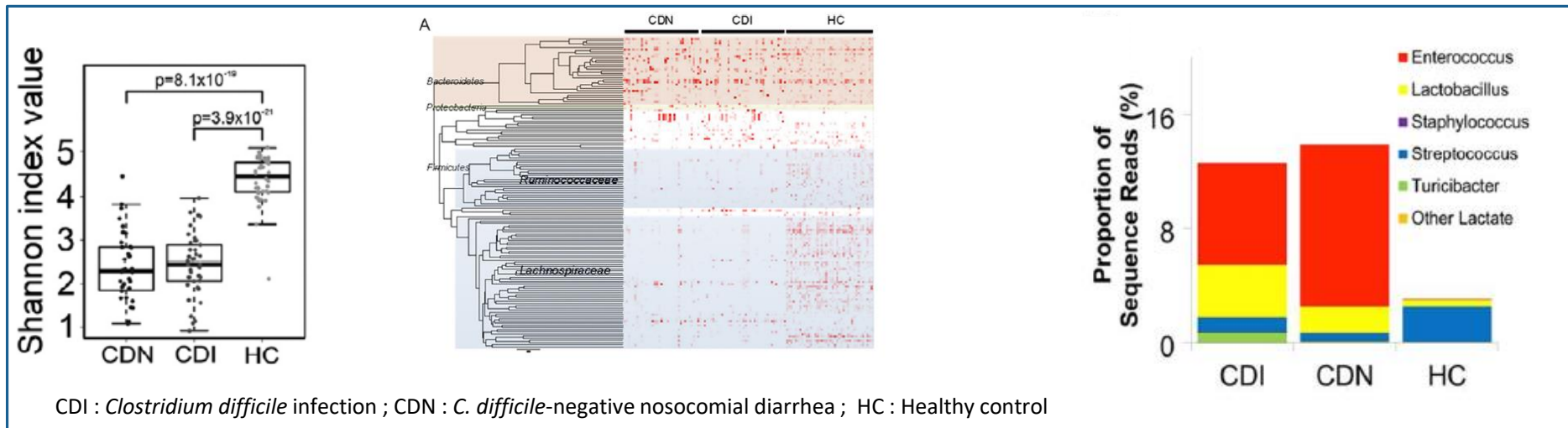
Facteurs de risques des ICD

- **Environnementaux** : facteurs de dysbiose
 - Antibiotiques
 - IPP, anti-acides, anticancéreux
 - Alimentation parentérale, régime sans fibre
- **Facteurs de l'hôte**
 - Age > 65 ans
 - Immunodépression
 - Co-morbidités

ATB à haut risque	ATB à risque moyen	ATB à bas risque
Clindamycine	Tetracyclines	Aminosides
Céphalosporines	Eythromycine	Metronidazole
Amoxicilline/acide clavulanique	Trimethoprime	Vancomycine
Fluoroquinolones	Fluoroquinolones	Rifampicine

Dysbiose et ICD

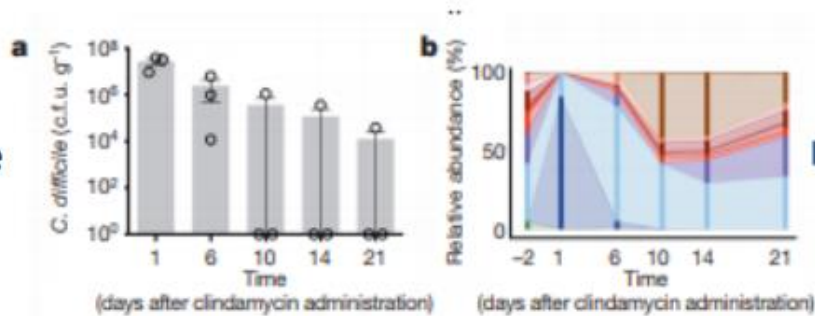
- Résultats consensuels sur la *composition du microbiote des patients atteints d'ICD* :
 - ↘ de la diversité microbienne
 - ↘ des *Bacteroides*, *Bifidobacterium* et bactéries (*Ruminococcaceae*, *Lachnospiraceae*) productrices de butyrate (principale source d'énergie pour la régénération des entérocytes)
 - ↗ des Proteobacteria et des *Enterocoques*



Quels sont les facteurs de dysbiose associés à l'ICD?

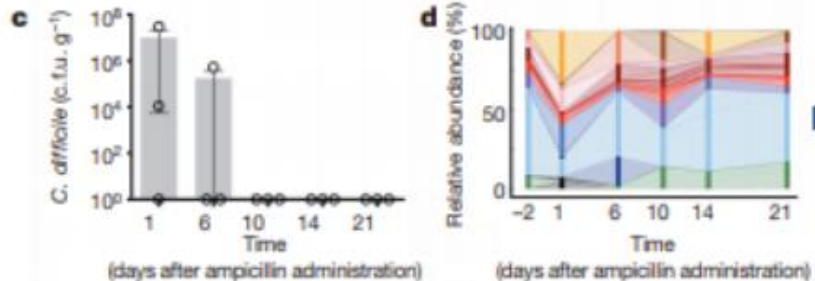
Les antibiotiques

Modèle clindamycine



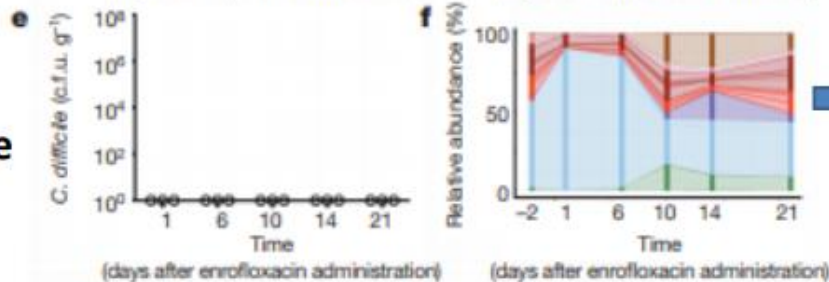
➔ Souris très susceptibles

Modèle ampicilline



➔ Souris susceptibles

Modèle enrofloxacin



➔ Souris très résistantes

Bacterial family



La susceptibilité à l'infection est fonction de la nature de la dysbiose

Les IPP

- IPP : ↘ Bactéroidetes, ↗ Firmicutes.
- ICD : altération du ratio Firmicutes/Bacteroidetes, ↗ Firmicutes et ↘ Bacteroidetes

Table 2 | Relative abundance of specific taxa; adjusted in quantile analysis for age, gender, dietary factors and use of other medications

	Relative abundance		Adjusted <i>P</i> -value
	PPI users	PPI non-users	
Phylum			
Bacteroidetes	37.8	49.9	0.0068
Firmicutes	56.9	44.3	0.0077
Family			
Firmicutes; Lachnospiraceae	28.4	18.4	0.0011
Genus			
Firmicutes; Erysipelotrichaceae; <i>Holdemania</i>	0.0151	0.0066	0.0002
Firmicutes; Streptococcaceae; <i>Streptococcus</i>	1.49	0.089	0.0359
Firmicutes; Lachnospiraceae; <i>Blautia</i>	5.92	2.53	0.0773
Species			
Firmicutes; Erysipelotrichaceae; <i>Holdemania</i>	1.1×10^{-4}	6.7×10^{-5}	0.0047
Firmicutes; Clostridium; <i>Pseudoflavonifractor capillosus</i>	4.1×10^{-5}	5.7×10^{-5}	0.0158
Clostridium clusters			
XIVa	0.16	0.11	0.0987

Les MICI

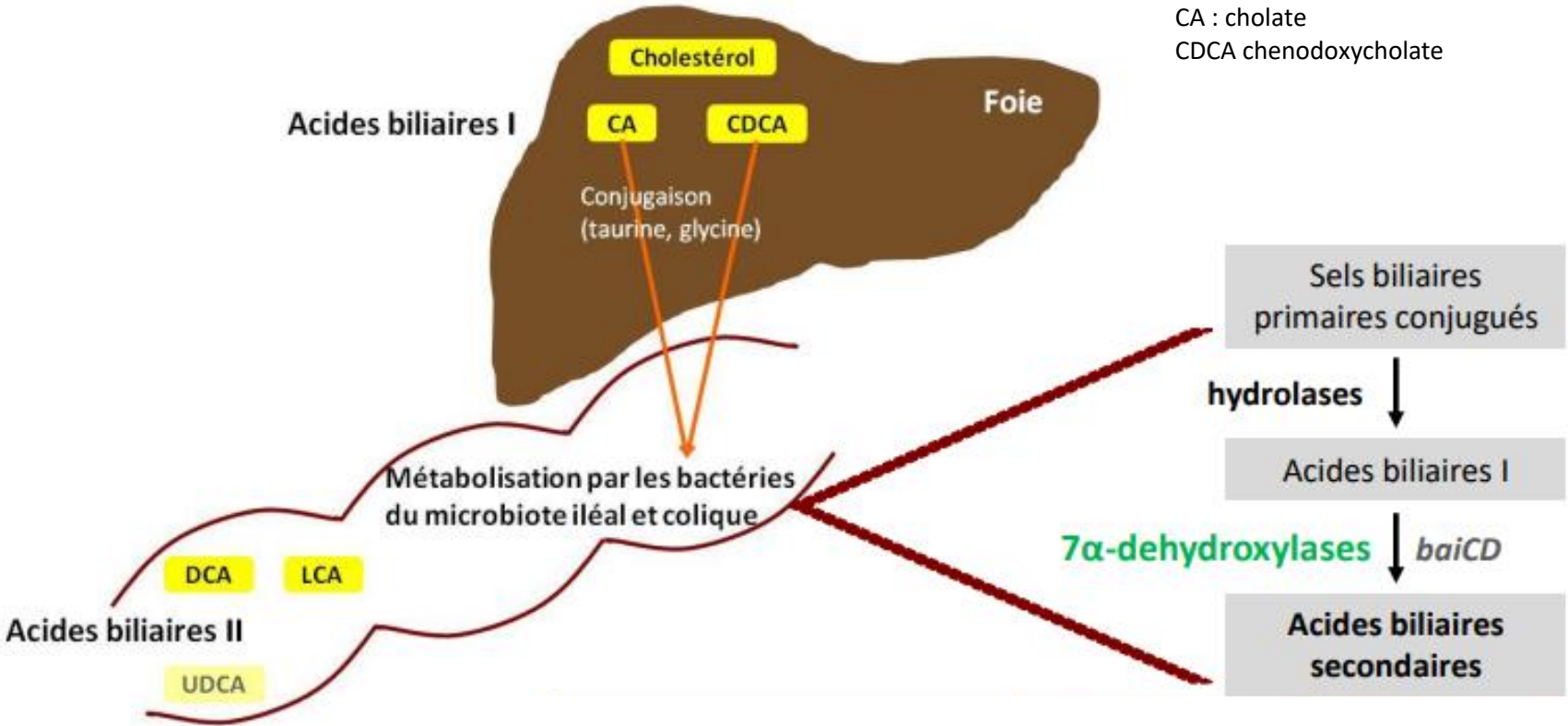
- MICI : ↗ du portage de *C. difficile* toxinogène par rapport au patient sains (8,2 vs 1 %)

Table 1. Comparative frequency of *C. difficile* detection in irritable bowel disease (IBD) patients vs. healthy adults

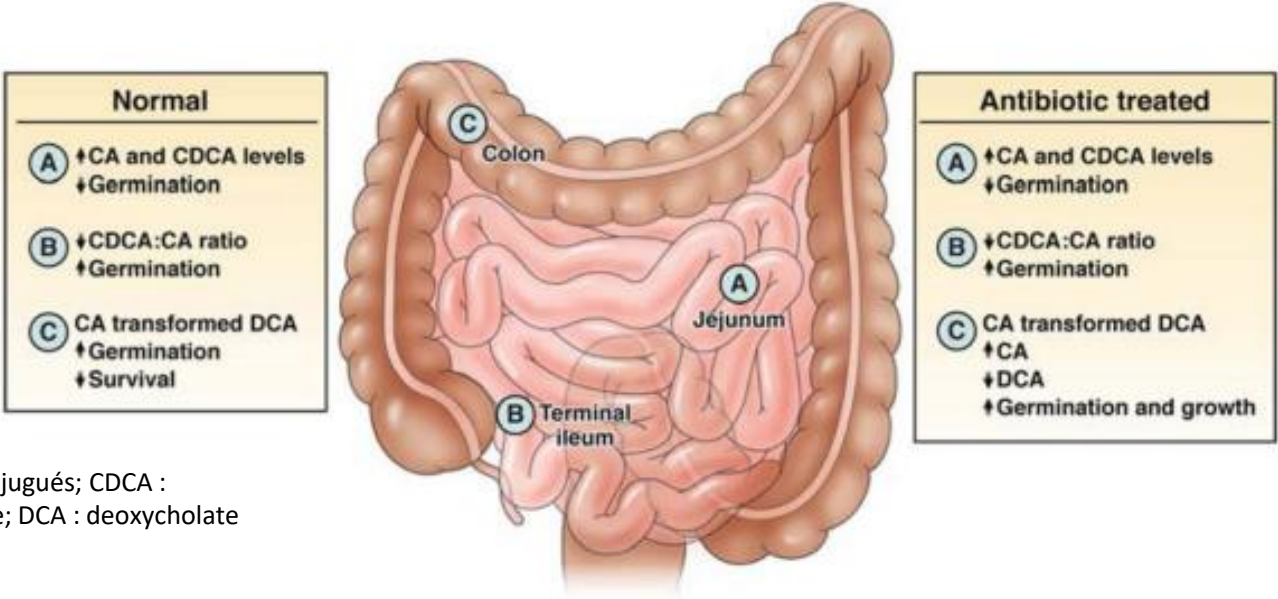
Study group	No. of participants	Male/female	No. (%) of <i>C. difficile</i> positive	No. (%) of toxin positive *Fisher's exact test
Asymptomatic healthy adult	99	38/61	2 (2.0)	1 (1.0)
<i>IBD patients</i>	122	48/74	13 (10.7)	10 (8.2) * <i>P</i> =0.02
With ulcerative colitis	64	23/41	7 (10.9)	6 (9.4) <i>P</i> =0.015
With Crohn's disease	58	25/33	6 (10.3)	4 (6.9) <i>P</i> =0.06

Modulation du métabolisme du
microbiote intestinal et
développement d'ICD?

Microbiote et métabolisme des acides biliaires



Microbiote, métabolisme des acides biliaires et *C. difficile*

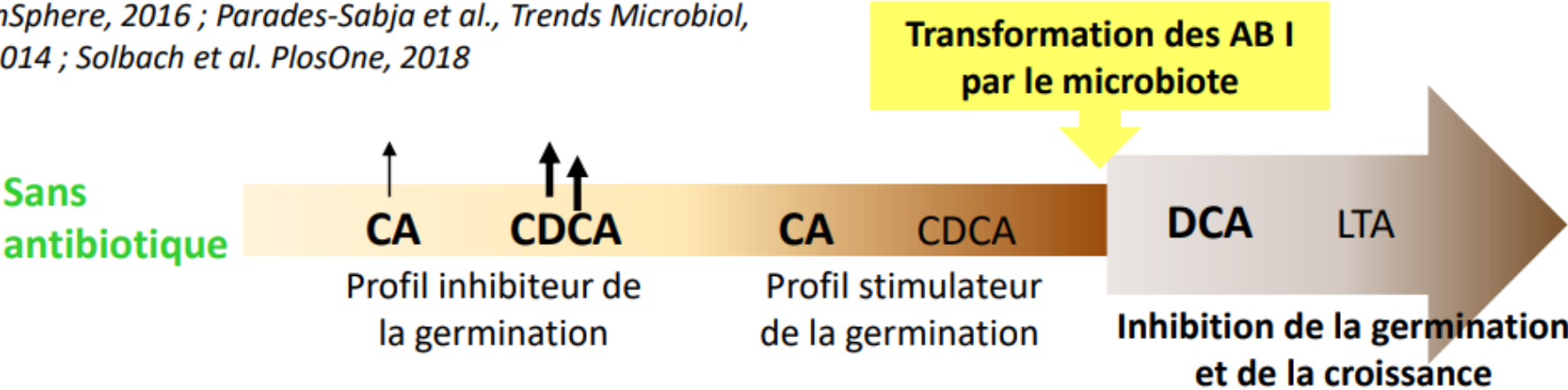


CA : cholate et conjugués; CDCA : chenodeoxycholate; DCA : deoxycholate

	Acides biliaires		Effet sur la germination
I	Cholate et conjugués	CA	Germinant
	Chenodéoxycholate	CDCA	Inhibiteur
II	Déoxycholate	DCA	Germinant +/-
	Lithocholate	LCA	Inhibiteur

Microbiote, métabolisme des acides biliaires et *C. difficile*

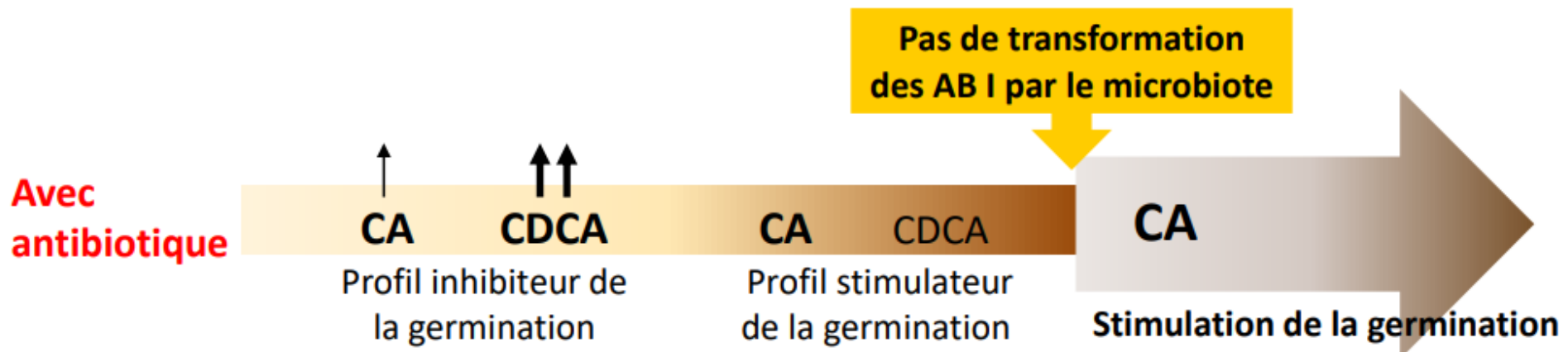
Britton & Young, *Gastroenterology*, 2014 ; Thériot et al., *mSphere*, 2016 ; Parades-Sabja et al., *Trends Microbiol*, 2014 ; Solbach et al. *PlosOne*, 2018



CA : cholate et conjugués; CDCA : chenodeoxycholate; DCA : deoxycholate

Dysbiose, métabolisme des acides biliaires et *C. difficile*

Britton & Young, *Gastroenterology*, 2014 ; Thériot et al., *mSphere*, 2016 ; Parades-Sabja et al., *Trends Microbiol*, 2014 ; Solbach et al. *PlosOne*, 2018



Dysbiose favorise la germination des spores de *C. difficile*

CA : cholate et conjugués; CDCA : chenodeoxycholate; DCA : deoxycholate

1. Germination des spores

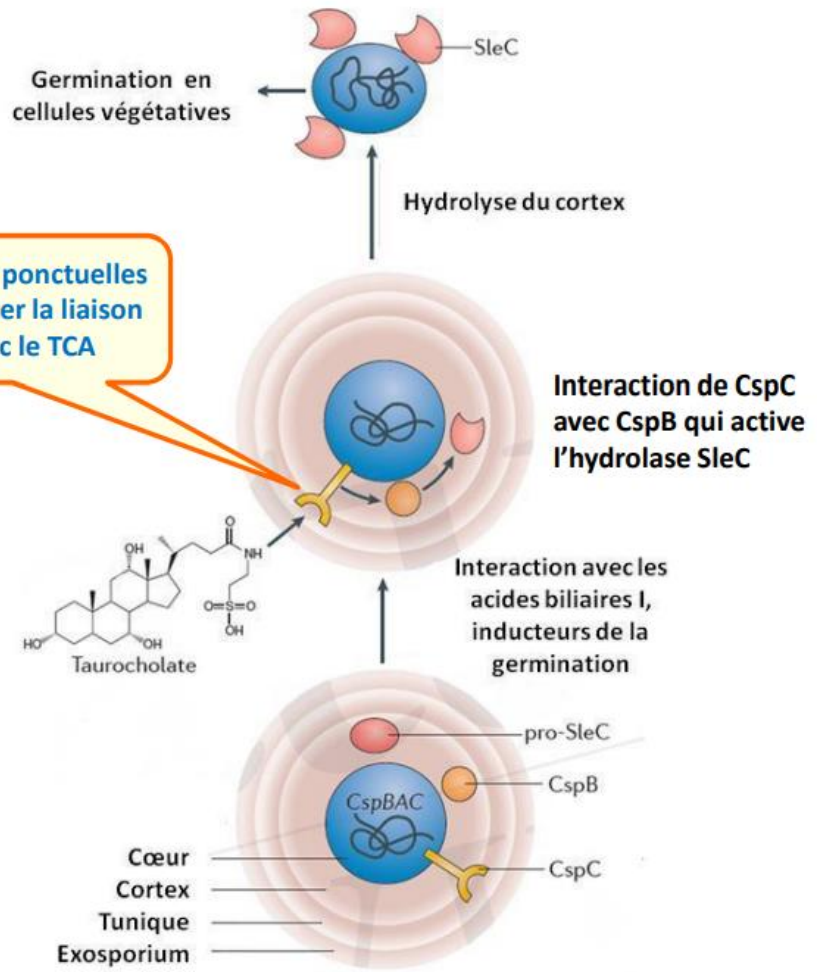


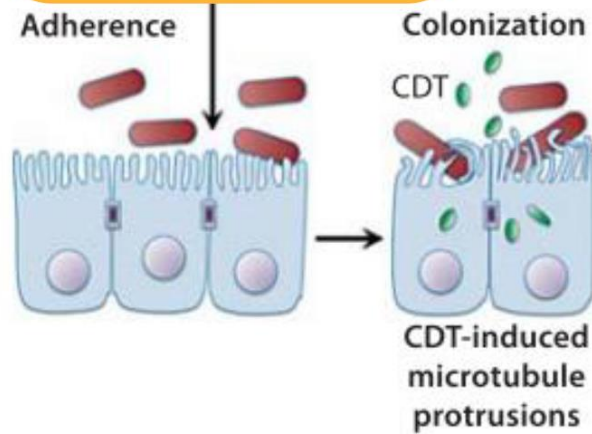
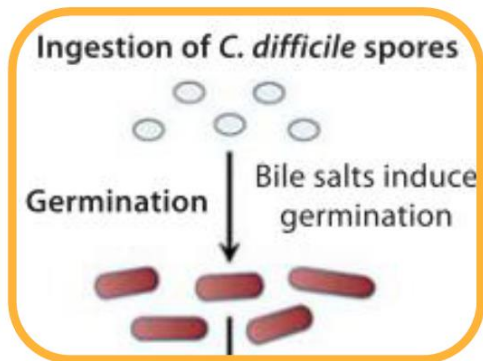
Acides biliaires et germination de *C. difficile*

- CspC : récepteur spécifique à la germination, possède une activité sérine protéase
- Germination activé par les acides biliaires primaire
- Activation in fine d'une cortex hydrolase (SleC) → hydrolyse du cortex

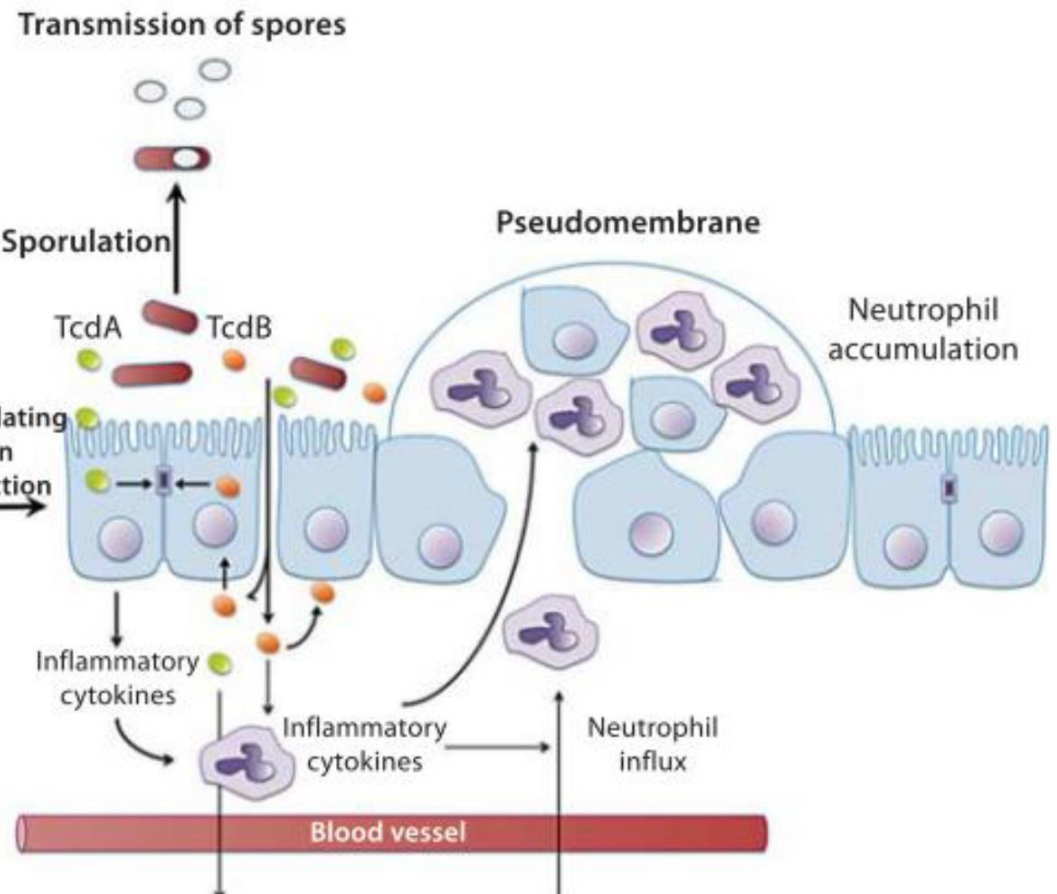
Des mutations ponctuelles peuvent affecter la liaison de Csp avec le TCA

Importance des acides biliaires pour la germination des spores de *C. difficile*





Glucosylating toxin production



Importance des acides biliaires pour la germination des spores de *C. difficile*

2. Adhérence



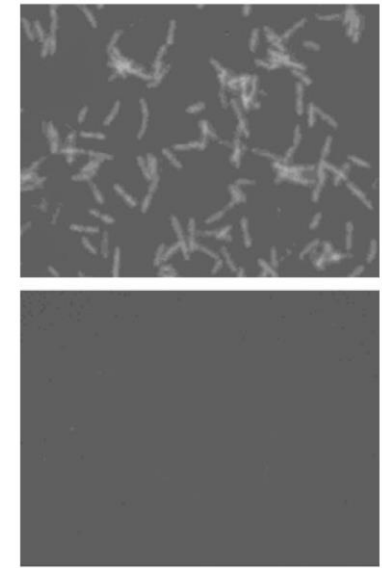
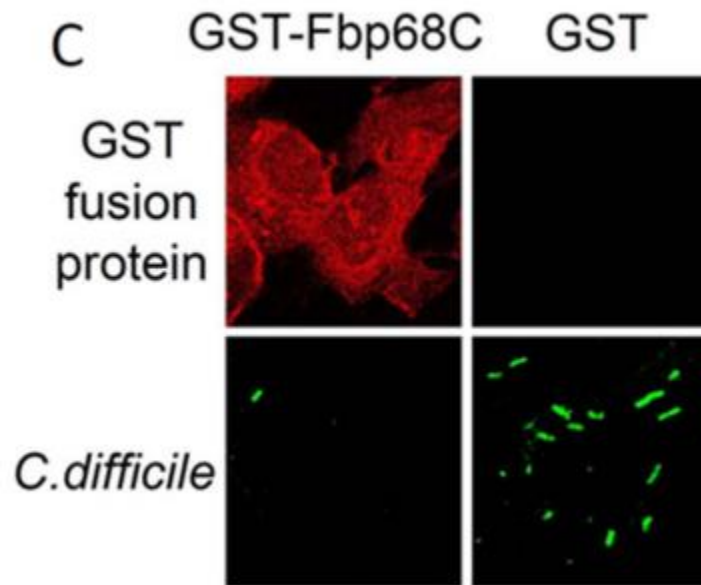
Protéines d'adhérence de *C. difficile*

Table 1. Non-toxin virulence factors of *C. difficile* and their putative or experimentally-determined functions.

Function	Gene Identifiers	Description
Motility and Secretion		
Putative Type IV pilus	CD3505–3513	Putative type IV pilus biosynthesis and function
Capsule	CD3253, CD0775, CD2769	Poly-gamma-glutamate biosynthesis
Flagella	CD0226–0271	Flagellar biosynthesis operon and flagellin glycosylation
Adhesion and Immune Evasion		
Collagen-binding proteins	CD2831, CD3392, CD0386	Putative recognition of extracellular matrix collagen
Fibronectin-binding proteins	FbpA, CD2797	Putative recognition of extracellular matrix fibronectin
Thrombospondin-domain containing protein	CD3145	Putative recognition of extracellular matrix fibrinogen
von-Willebrand Factor binding proteins	CD3038 CD2248 CD0323	Putative von-Willebrand Factor binding
Sortase	CD2718	Class B sortase
Major surface layer protein	<i>slpA</i>	Cleaved into high and low molecular weight S-layer proteins, phase variable
Cysteine protease	<i>cwp84</i>	Cleaves SlpA, possible degradation of host extracellular matrix proteins
Adhesin	<i>cwp66</i>	Putative adherence to host cells
Hemagglutinin/Adhesin	CD0514	Putative hemagglutinin
Phase-variable cell wall protein	<i>cwpV</i>	Bacterial aggregation, putative immune evasion
Other Proteins		
Cell Lysis	CD1546	Putative hemolysin-like protein
Collagen-specific protease	CD1228	Putative degradation of collagen

Fibronectin binding protéine Fbp68 ou FbpA

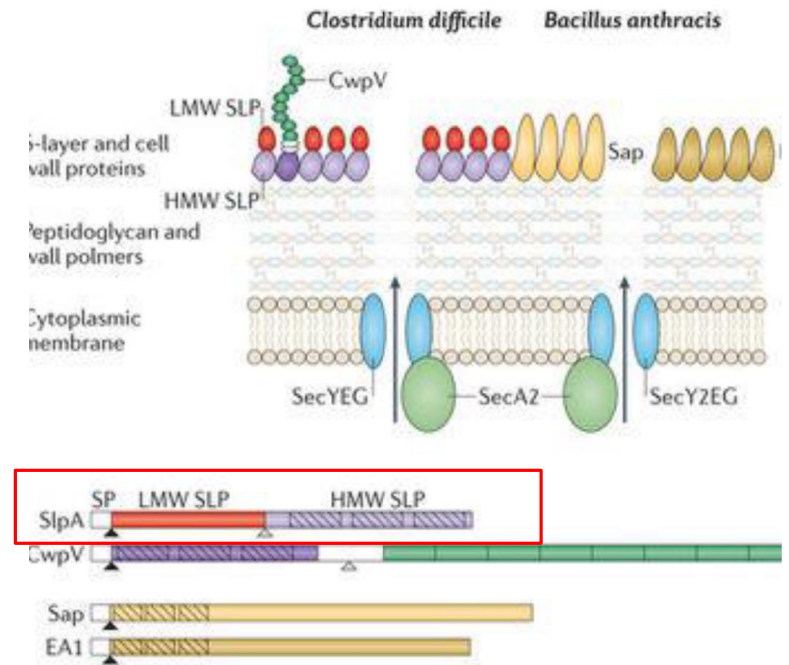
- Protéine de surface : liaison à la fibronectine
- Fibronectine : surface de nombreuses cellules eucaryotes (immobilisée) et sous forme soluble dans les fluide
- *C. difficile* se lie à la fibronectine soluble ou immobilisé
- Liaison possible à d'autres protéines de la matrice extracellulaire (fibrinogène, vitronectine...)



Haut : bactéries pré incubées avec de la fibronectine soluble , ajout d'anti sérum fluorescent → *C. difficile* peut se lier à la fibronectine soluble.
Bas : contrôle négatif

Protéines de la couche « S »

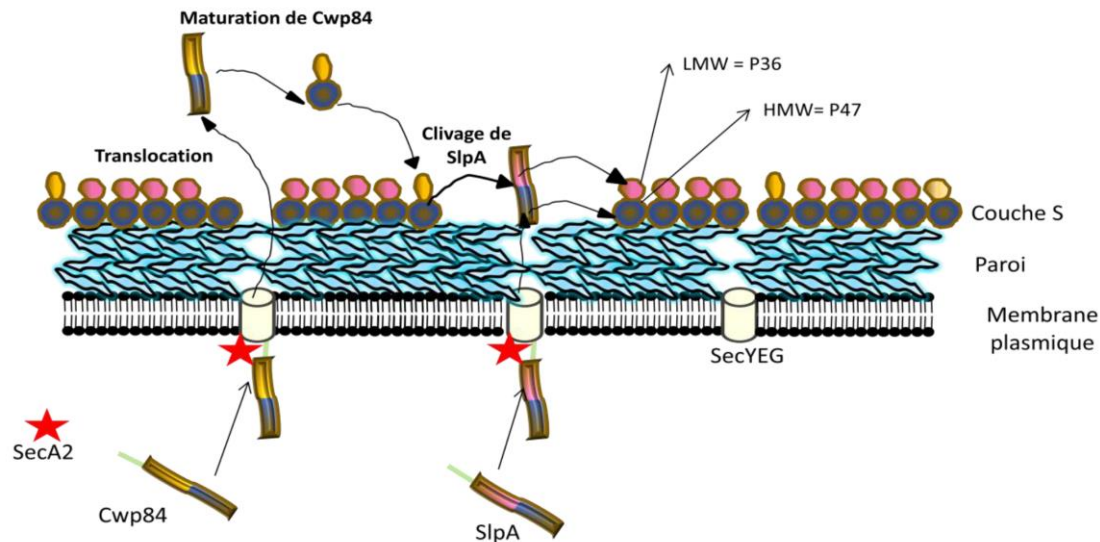
- Surface de *C. difficile* : couche cristalline en 2 dimensions appelée « couche S »
- Recouvre entièrement la surface bactérienne
- Rôle dans l'adhésion cellulaire et dans la protection contre les macrophages
- 2 couches protéiques superposées :
 - Couche externe : protéine LMW-SLP
 - Couche interne : protéine HMW-SLP
 - LMW-SLP et HMW-SLP : dérive d'un précurseur commun SlpA



LMW-SLP (Low Molecular Weight Surface Layer Protein),
HMW-SLP (High Molecular Weight Surface Layer Protein)

Protéines de la couche « S »

- 1 : le précurseur est exporté par le système de sécrétion SecA. Lors de la translocation, le peptide signal de SlpA est clivé par une peptidase encore inconnue
- 2 : après translocation, la protéine SlpA est clivée par la cystéine protéase Cwp84
 - HMW et LMW : issues de ce clivage et forment la couche S
- Cwp13 : clivage et maturation de Cwp84



Protéines de la couche « S »

A : sans traitement chimique

B : traitement chimique
(perte des protéines de la couche « S » : diminution de l'adhésion de la bactéries aux cellules HeLa

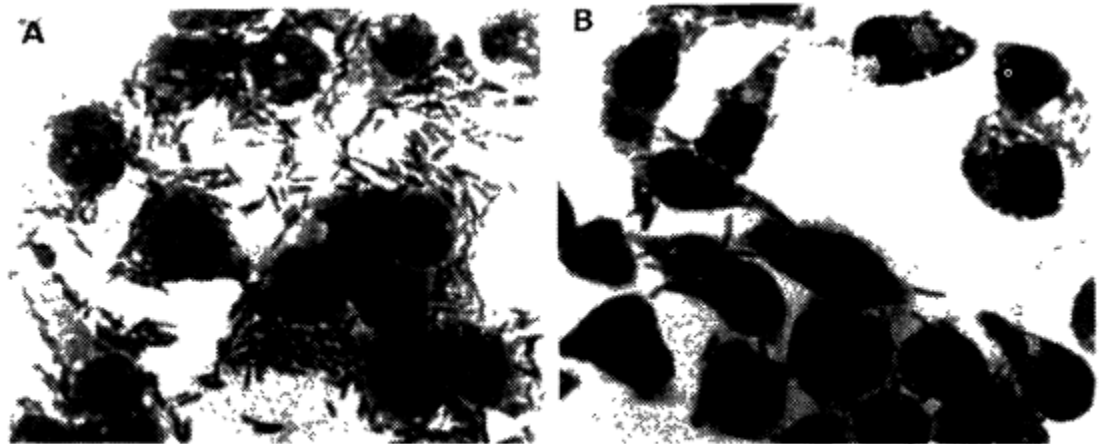
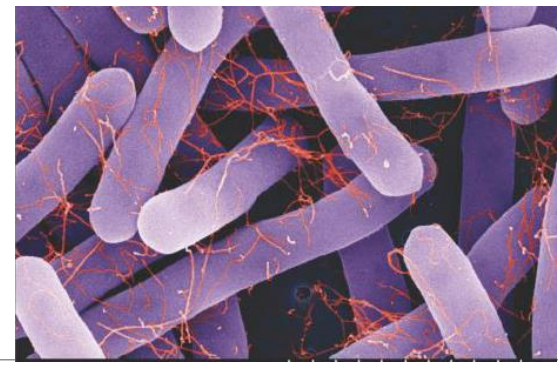
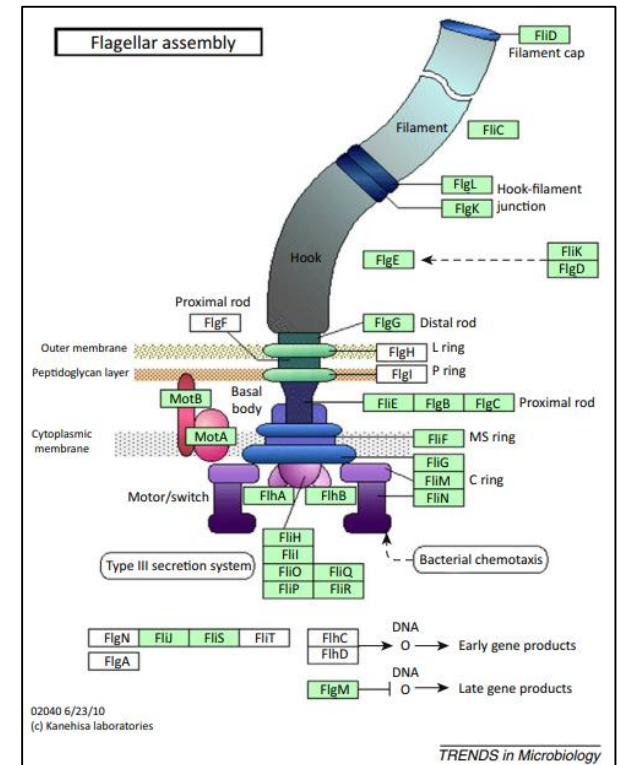


Fig. 6. Adherence of *C. difficile* GAI0714 viable cells (A) and GA-fixed cells (B) to HeLa cells.

Flagelles



- Appendice filamenteux ancré dans la membrane bactériennes autour de la bactérie
- Disposition péritriche
- Rôles :
 - Mobilité des bactéries au sein du mucus , première barrière rencontrée lors de la colonisation
 - Rôle dans l'adhésion
 - La formation du biofilm
- Deux gènes :
 - *fliC* : code pour la flagelline : composant principal du filament flagellaire
 - *fliD* : code pour la coiffe du flagelle
- Protéines :
 - *FliC* et *FliD* : liaison au mucus caecal murin
 - *FliC*D : rôle dans l'adhésion au mucus



Organisation structurale représentative d'un flagelle chez une bactérie Gram-négative, Les gènes flagellaires (surlignés en vert) indiquent ceux qui ont été identifiés et/ou caractérisés chez *Clostridium difficile*

Flagelles

- 4 souches :
 - ATCC 43593 (ToxA-B-Fla+)
 - EX560 (ToxA-B-Fla-)
 - ATCC 43598 (ToxA-B+Fla+)
 - 6058 (ToxA-B+Fla-)
- Souches flagellées adhèrent 10 fois moins au tissu caecal murin que les souches non flagellées

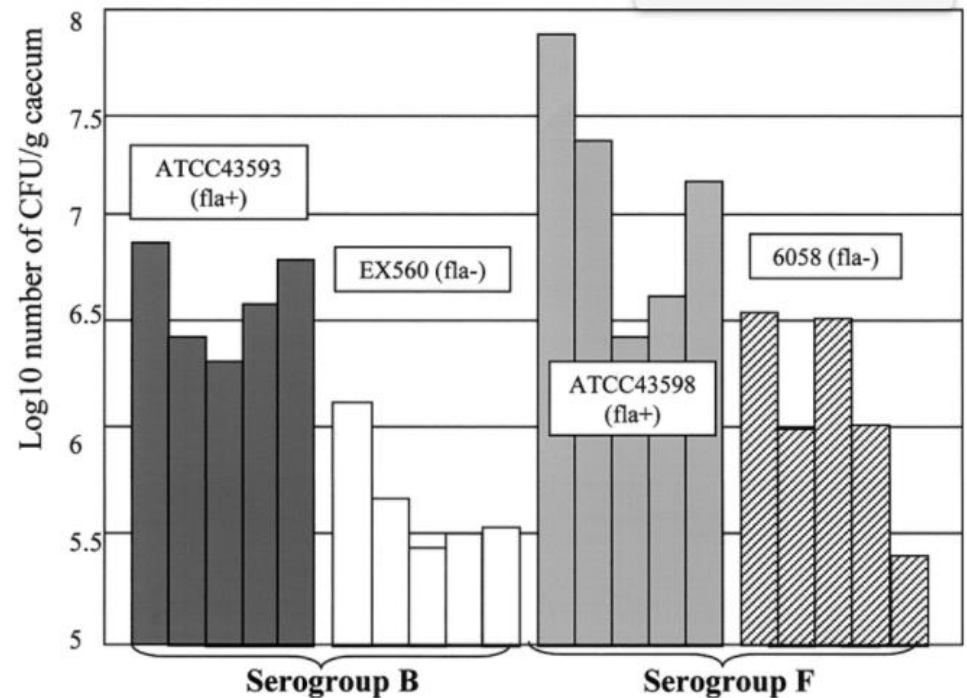
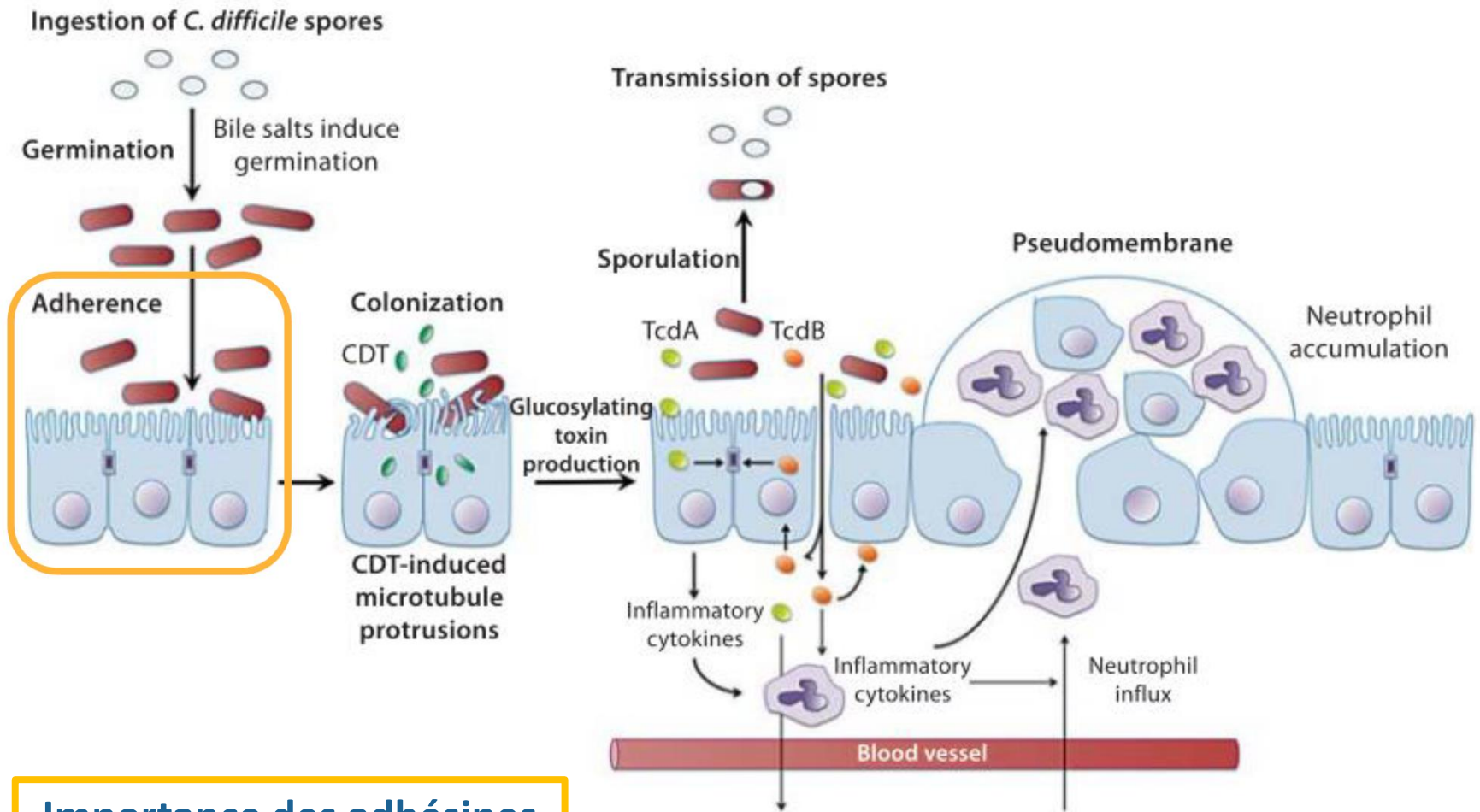


Fig. 2. Adherence of flagellated and nonflagellated *C. difficile* strains to axenic mouse caecum. The adherence of flagellated and nonflagellated strains belonging to the same serogroup is expressed as log₁₀ number of bacteria per gram of caecum from five mice. Strains belonging to serogroup B are toxin A negative, whereas strains belonging to serogroup F are toxin A and B negative.

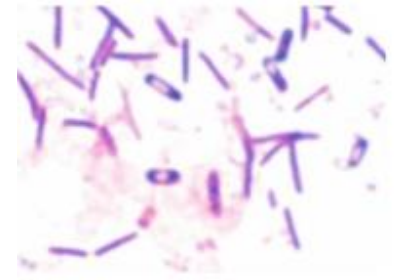


Importance des adhésines et flagelle pour la colonisation

3. Les toxines



Toxines



- Facteurs de virulence → souche non toxigène n'est pas pathogène
 - **Toxine A** : entérotoxine, responsable d'une inflammation de l'épithélium intestinal
 - **Toxine B** : cytotoxine à action toxique sur les cellules de l'épithélium et augmentation de la perméabilité de la muqueuse intestinale

TcdA + TcdB :

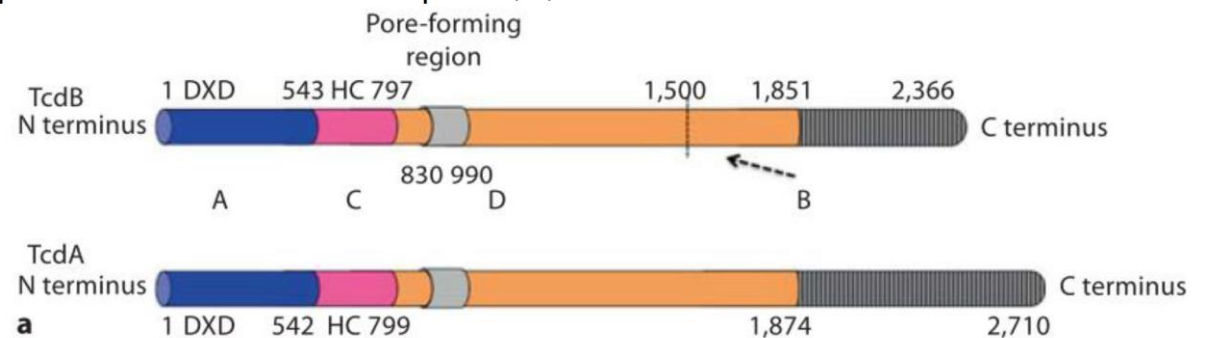
- destruction des jonctions serrées des entérocytes
- réaction inflammatoire intense avec un recrutement des PNN (=) lésions intestinales aboutissant à la nécrose des entérocytes
 - **Toxine binaire** : produite par les souches hypervirulentes. Perturbe le cytosquelette. Pourrait potentialiser les effets cytotoxiques des toxines A et B. Plus souvent associée à des formes sévères d'infections.

Toxines A et B (TcdA et TcdB)



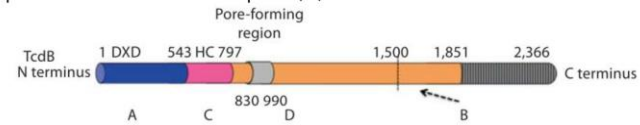
Structure

- Polypeptides de grande taille
- Structure primaire similaire - 4 domaines :
 - Domaine N-terminal : activité enzymatique toxique (A)
 - Domaine C-terminal : liaison cellules cibles (B)
 - Domaine à activité cystéine protéase (C)
 - Domaine hydrophobe, responsable de la formation d'un pore (D)

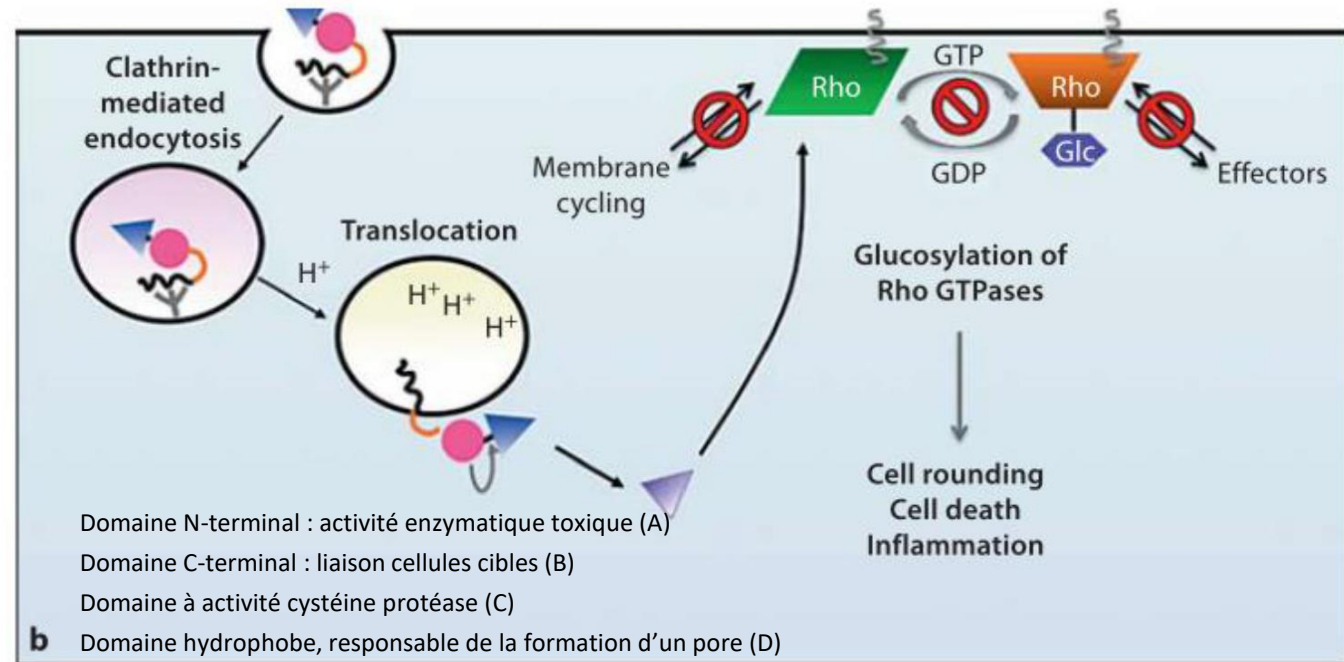


Toxines A et B (TcdA et TcdB)

Mécanisme d'action direct



Rho GTPases : protéines de signalisation ayant un rôle fondamental : croissance cellulaire, formation cytosquelette, jonction intercellulaire



**Désorganisation du cytosquelette,
arrondissement des cellules et
mort cellulaire**

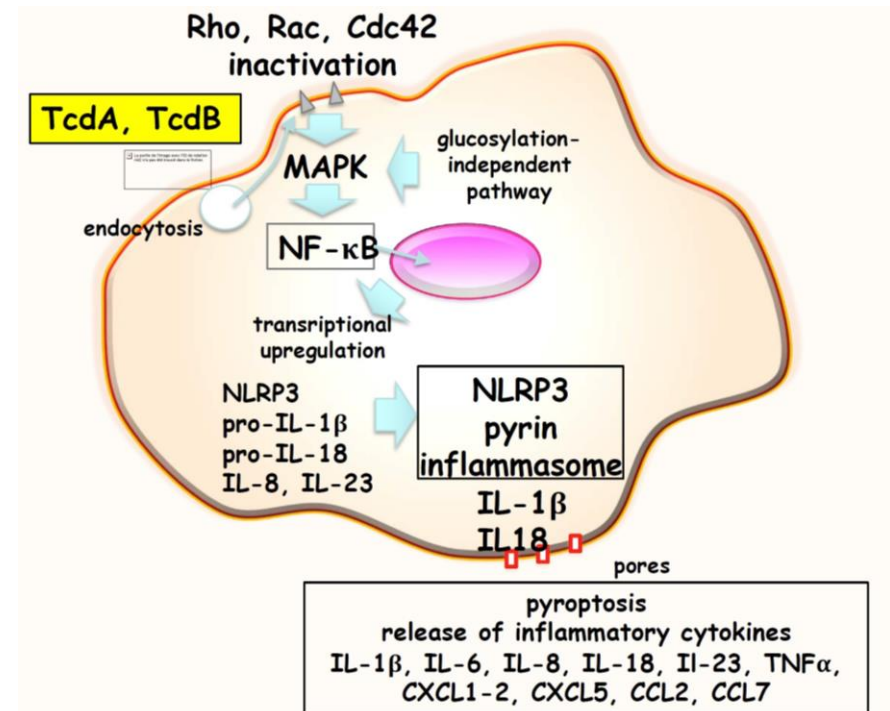
Toxines A et B (TcdA et TcdB)



Mécanisme d'action indirect

Production de cytokines pro inflammatoires, afflux de PNN → nécrose cellules coliques

Formation de pseudomembranes



Inflammation, nécrose cellules coliques

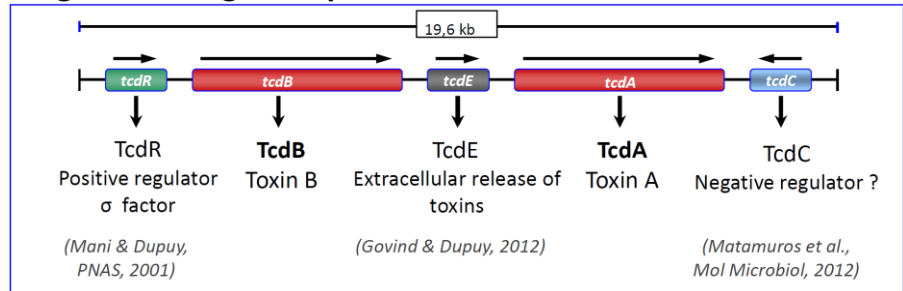
pyroptosis
release of inflammatory cytokines
IL-1β, IL-6, IL-8, IL-18, IL-23, TNFα,
CXCL1-2, CXCL5, CCL2, CCL7

Toxines A et B (TcdA et TcdB)



Support génétique

- Locus de pathogénicité PaLoc de 19,6 kb
- Gène *tcdA* : code pour TcdA
- Gène *tcdB* : code pour TcdB
- Gène *tcdC* : code pour un répresseur de la transcription
- Gène *tcdE* : favorise l'excrétion des toxines
- Gène *tcdR* : régulation transcriptionnelle positive
- Influence de l'environnement sur la transcription (température, glucose, sources de carbone)



Toxines binaire CDT



Généralités

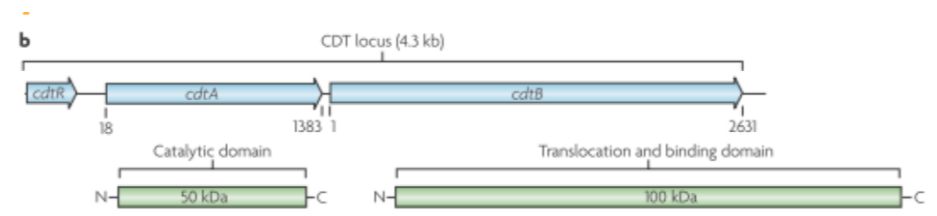
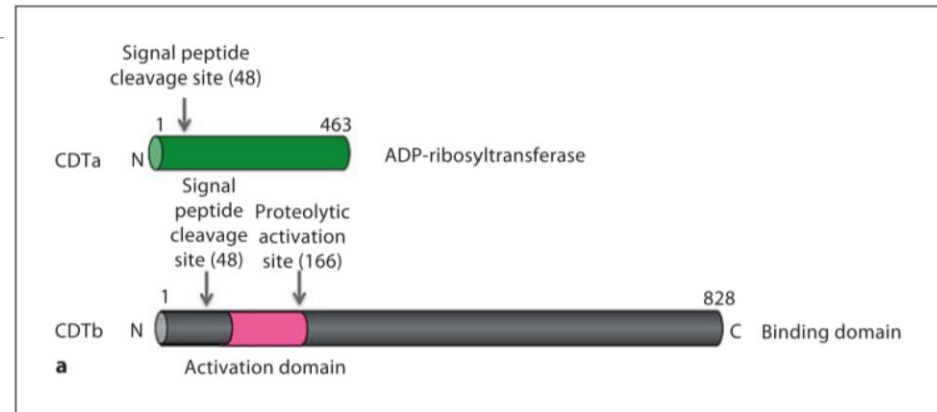
- 6-10% des souches : toxine binaire CDT
- Pourrait potentialiser les effets cytotoxiques des toxines A et B et serait plus souvent associée à des formes sévères d'infections liées à *C. difficile*

Toxines binaire CDT



Structure

- 2 sous unités :
 - CDTa (partie enzymatique)
 - CDTb (partie ligand: rôle de récepteur de CDTa et translocation)
- 3 gènes :
 - *cdtA*, *cdtB* et *cdtR*
 - *cdtR* code pour une protéine régulatrice de la famille LytTR nécessaire à l'expression optimale de CDT

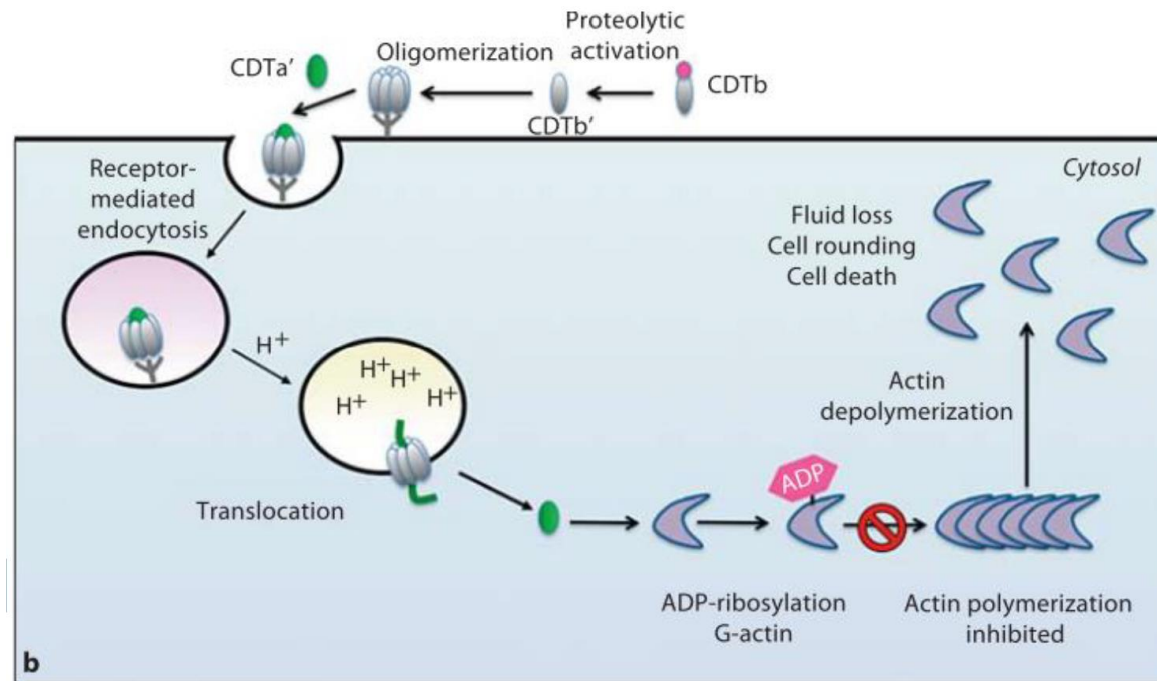


Toxines binaire CDT



Mécanisme d'action

- Activité ADP ribosyl transférase
destruction du cytosquelette,
ballonisation, mort cellulaire
- Potentialisation des effets
cytotoxiques des toxines A et B
et serait plus souvent associée à
des formes sévères d'infections
liées à *C. difficile*



Toxines



Importance des toxines

Lyerly et al, 1985: Modèle hamster (modèle de virulence) administration intragastrique de toxines purifiés

- TcdA : symptômes de l'ICD mais légers
- TcdB : pas de toxicité sans administration de TcdA
- TcdA + TcdB : symptomatologie plus sévère

Les deux toxines agissent de manière synergique la toxine A est responsable des lésions initiales qui vont permettre l'effet de la toxine B (cytotoxicité)

Toxines

Importance des toxines



Study	Genetic background	Method	Genes		Hamster model	
			<i>tcdA</i>	<i>tcdB</i>	Protocol	Virulence
<i>Lyras et al., Nature, 2009</i>	JIR8094	Recombination	+	+	Antibiotic: clindamycin D-5	++
			+	-		-
			-	+	Challenge: 10 ⁵ spores	++
<i>Kuehne et al., Nature, 2010</i>	630Δerm	Clostron	+	+	Antibiotic: clindamycin D-5	++
			+	-		+
			-	+	Challenge: 10 ² spores	++
			-	-		-

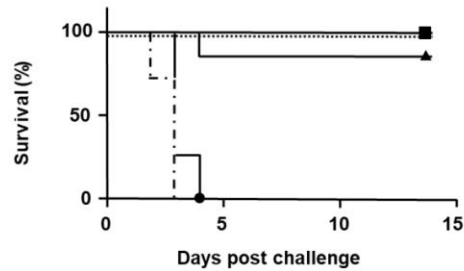
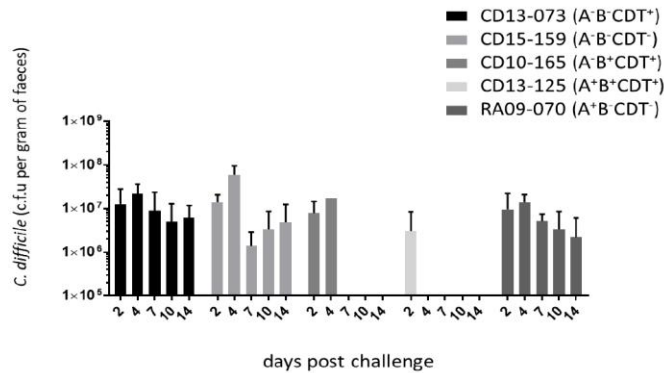
Study	Genetic background	Genes			Virulence in hamster model
		<i>tcdA</i>	<i>tcdB</i>	<i>cdtA</i>	
<i>Kuehne et al., JID, 2014</i>	R20291	+	+	+	++
		-	-	-	-
		-	+	-	++
		+	-	-	+
		+	-	+	++
		-	+	+	++

Toxines

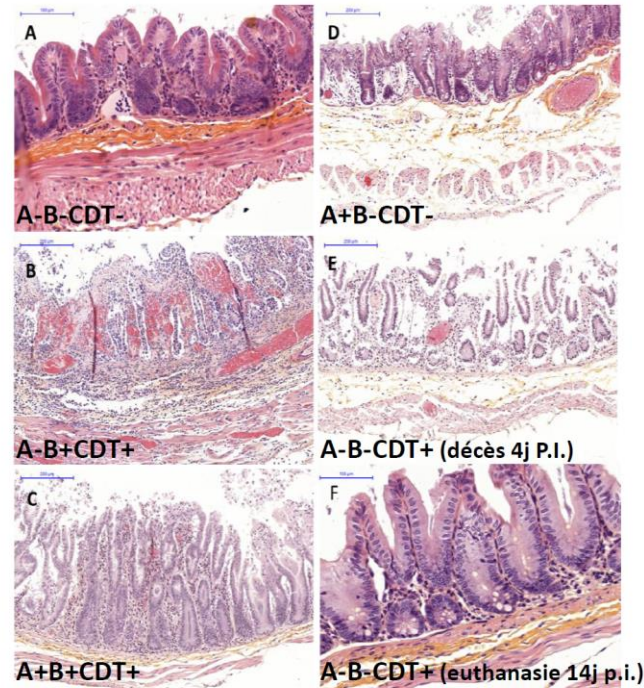
Importance des toxines



Modèle hamster : clindamycine 5 jrs avant infection 10^4 spores

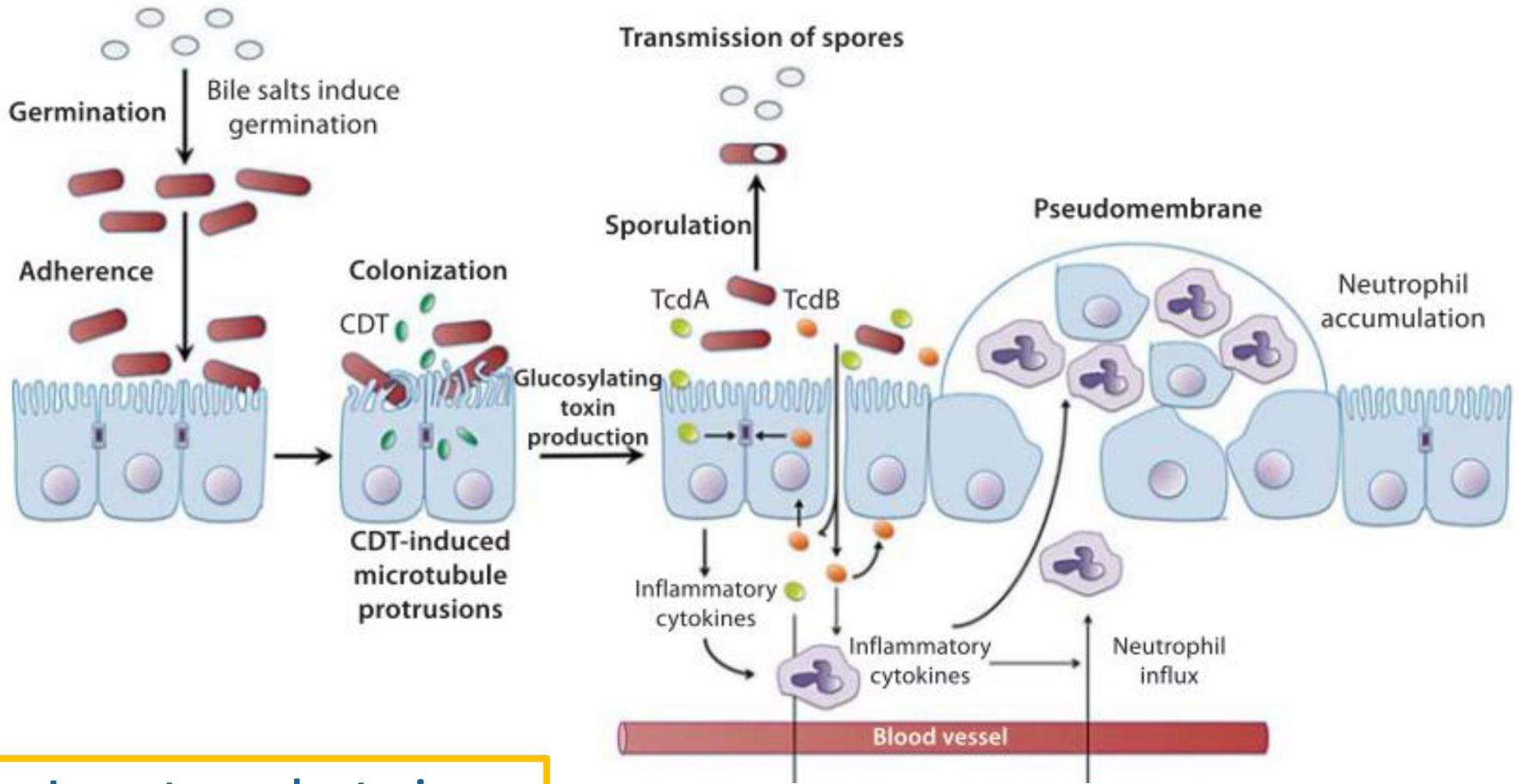


▲ CD13-073 A-B-CDT+ n=7 --- CD13-125 A+B-CDT+ n=7
 CD15-159 A-B-CDT- n=7 ● CD10-165 A-B+CDT+ n=8
 ■ RA09-070 A+B-CDT- n=8



Analyse histologique des caeca de hamsters infectés par les différentes souches (coloration hématoxyline/éosine)

Ingestion of *C. difficile* spores



**Importance des toxines
dans le processus
inflammatoires et dans la
mort cellulaire**

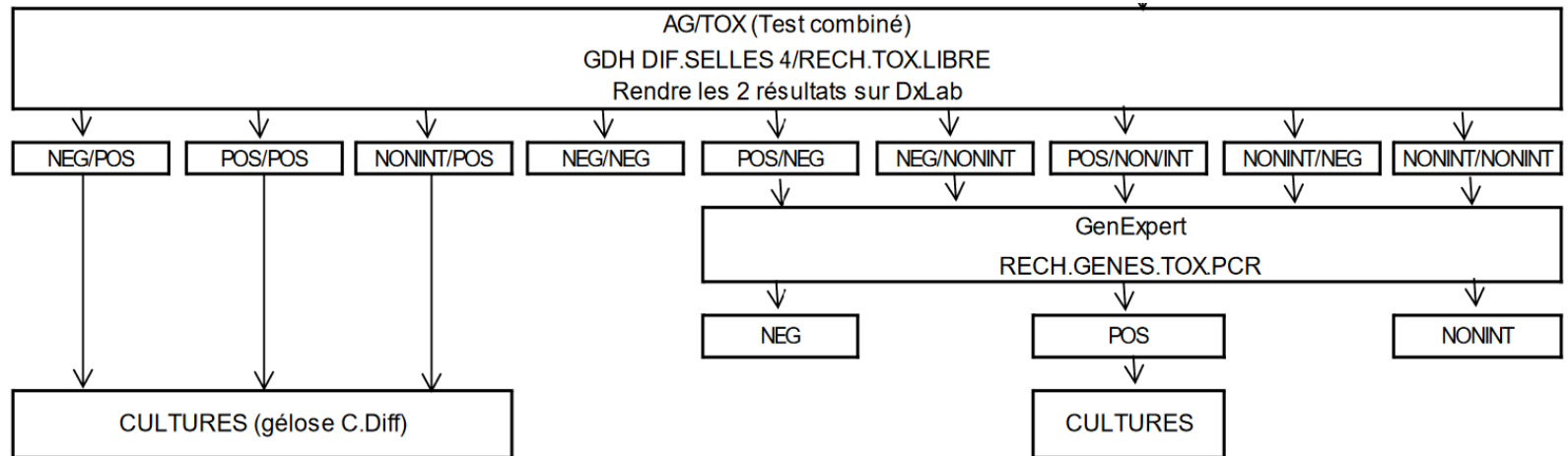
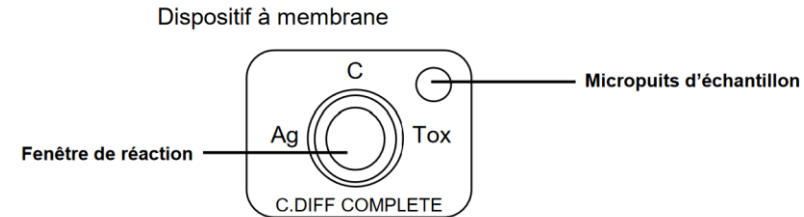
4. Diagnostic microbiologique



Au CHU de Nantes

1. Test Rapide Immunochromatographique

- Échantillon de selle
- GDH + Toxine A et B



Au CHU de Nantes

2. Test Xpert si GDH POS et Toxine : NEG

- Détection du gène *tcdB* de la toxine B et de la toxine binaire de *C. difficile*
- Permet la détection de *C. difficile* toxinogènes (toxine B) ainsi que le diagnostic présumé de *C. difficile* de ribotype O27

5. Traitement





Arrêt de l'ATBthérapie

Traitement recommandé	Niveau de preuve
Métronidazole 500 mg/8h PO pendant 10 jours	A-I
Vancomycine 125 mg/6h PO pendant 10 jours	B-I
Fidaxomicine 200 mg/12h PO pendant 10 jours	B-I
Vancomycine 500 mg/6h PO pendant 10 jours	C-I
Arrêt des antibiotiques et surveillance avec ré-évaluation à 48h	C-II
Si voie orale impossible : métronidazole IV 500 mg / 8h pendant 10 jours	A-II

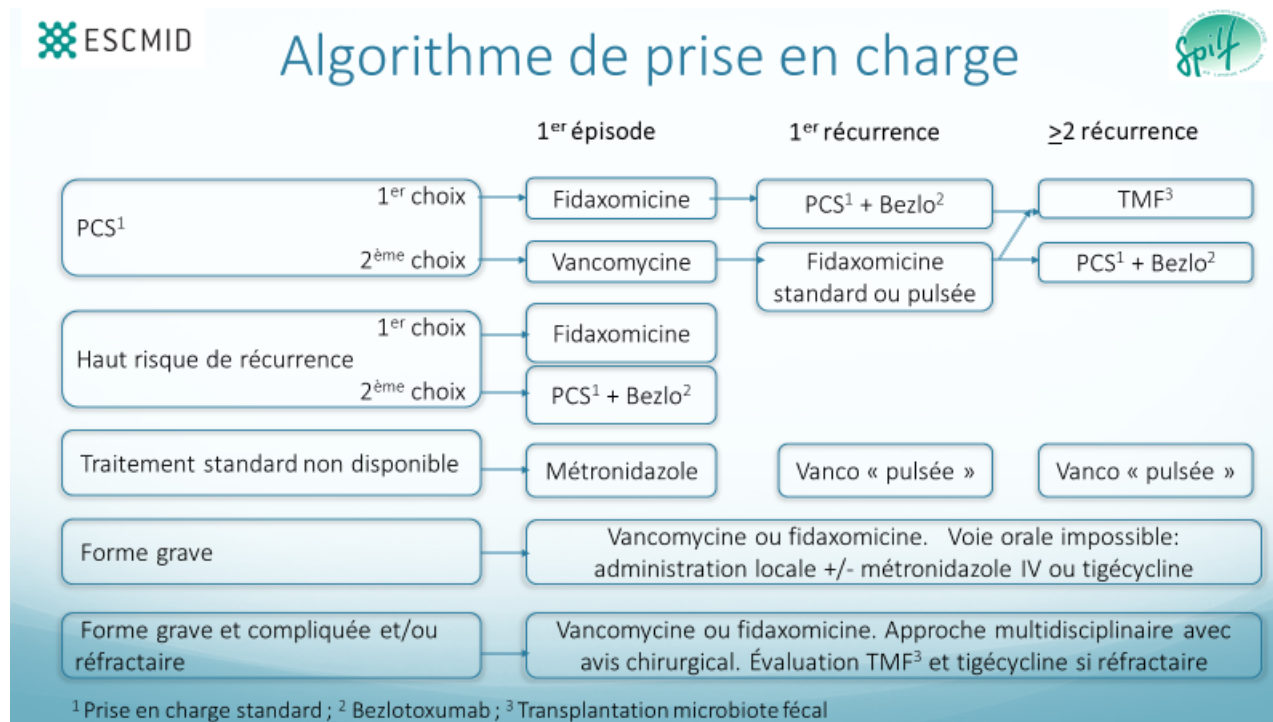
Table 1. Recommendations for the Treatment of *Clostridium difficile* Infection in Adults

Clinical Definition	Supportive Clinical Data	Recommended Treatment ^a	Strength of Recommendation/ Quality of Evidence
Initial episode, non-severe	Leukocytosis with a white blood cell count of ≤ 15000 cells/mL and a serum creatinine level < 1.5 mg/dL	• VAN 125 mg given 4 times daily for 10 days, OR	Strong/High
		• FDX 200 mg given twice daily for 10 days	Strong/High
Initial episode, severe ^b	Leukocytosis with a white blood cell count of ≥ 15000 cells/mL or a serum creatinine level > 1.5 mg/dL	• Alternate if above agents are unavailable: metronidazole, 500 mg 3 times per day by mouth for 10 days	Weak/High
		• VAN, 125 mg 4 times per day by mouth for 10 days, OR	Strong/High
Initial episode, fulminant	Hypotension or shock, ileus, megacolon	• FDX 200 mg given twice daily for 10 days	Strong/High
		• VAN, 125 mg 4 times per day by mouth for 10 days, OR	Strong/High
First recurrence	...	• VAN, 500 mg 4 times per day by mouth or by nasogastric tube. If ileus, consider adding rectal instillation of VAN. Intravenously administered metronidazole (500 mg every 8 hours) should be administered together with oral or rectal VAN, particularly if ileus is present.	Strong/Moderate (oral VAN); Weak/Low (rectal VAN); Strong/Moderate (intravenous metronidazole)
		• VAN 125 mg given 4 times daily for 10 days if metronidazole was used for the initial episode, OR	Weak/Low
		• Use a prolonged tapered and pulsed VAN regimen if a standard regimen was used for the initial episode (eg, 125 mg 4 times per day for 10–14 days, 2 times per day for a week, once per day for a week, and then every 2 or 3 days for 2–8 weeks), OR	Weak/Low
Second or subsequent recurrence	...	• FDX 200 mg given twice daily for 10 days if VAN was used for the initial episode	Weak/Moderate
		• VAN in a tapered and pulsed regimen, OR	Weak/Low
		• VAN, 125 mg 4 times per day by mouth for 10 days followed by rifaximin 400 mg 3 times daily for 20 days, OR	Weak/Low
		• FDX 200 mg given twice daily for 10 days, OR	Weak/Low
		• Fecal microbiota transplantation ^c	Strong/Moderate

IDSA 2018

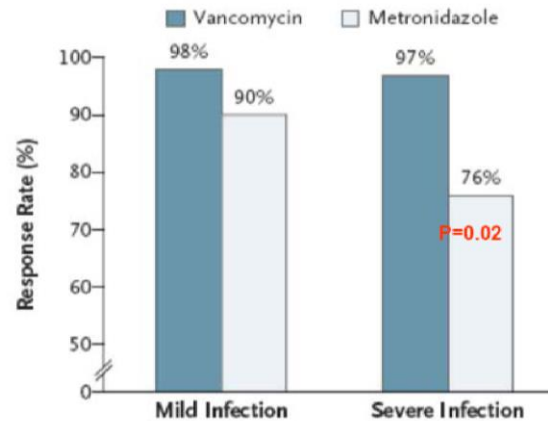
IDSA 2018 : mise en retrait du métronidazole . Uniquement si pas d'accès à la Vancomycine ou à la Fidaxomicine.

Arrêt de l'ATBthérapie



- Traitement : Vancomycine vs Métronidazole

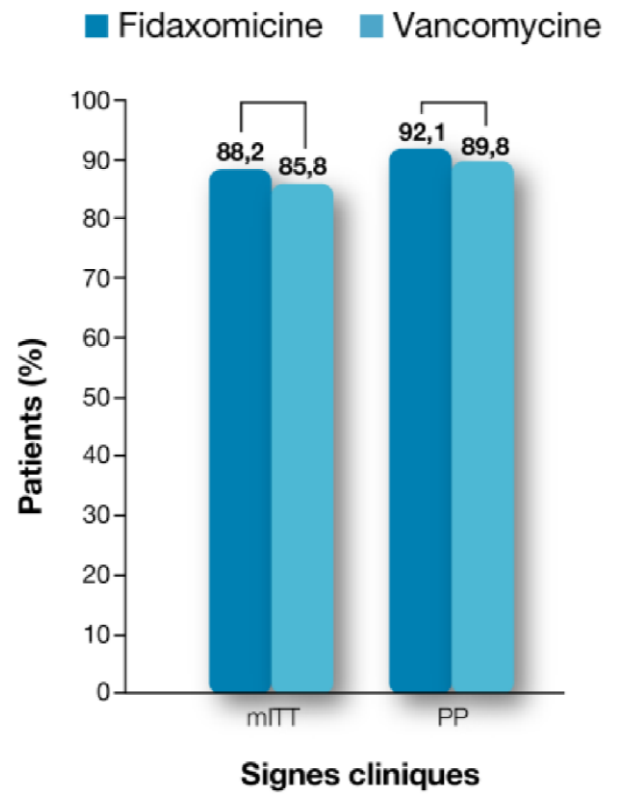
- Prospective randomized, double blind, placebo-controlled study on 150 patients (1994-2002)
- Follow up for 21 days
- Cure : resolution of symptoms D6 and negative test for toxin A at D6 and D10
- Definition of severity: ≥ 2 points
 - Age > 60 ans : 1 pt
 - T > 38°3 : 1 pt
 - Alb. < 2.5 mg/dl 1 pt
 - WBC > 15000/mm³ 1pt
 - PMC : 2 pts
 - ICU 2 pts



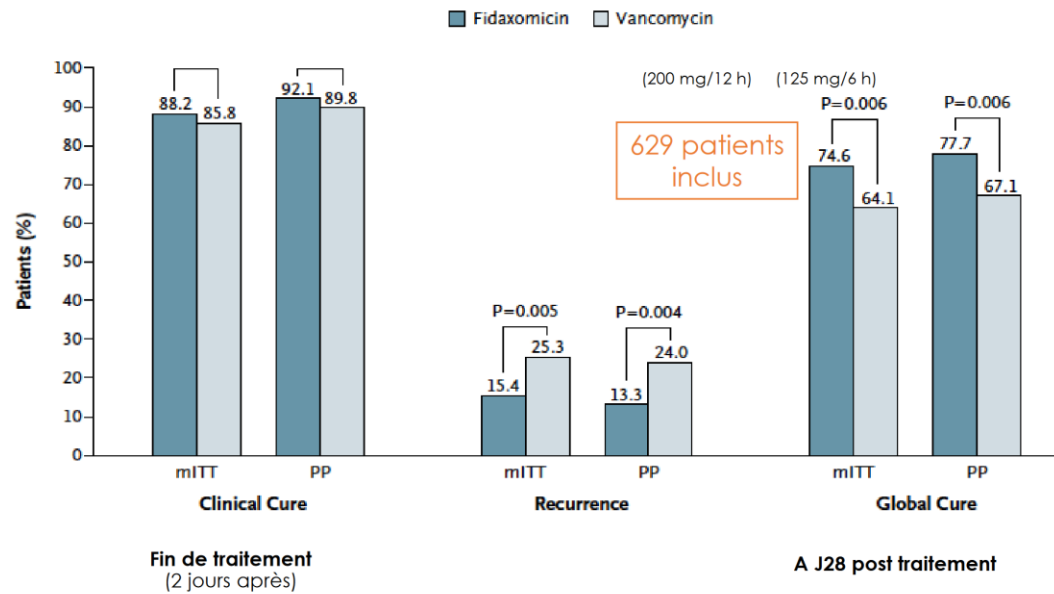
Moins d'efficacité du métronidazole par rapport à la Vancomycine

- Traitement : Fidaxomicine vs Vancomycine

Fidaxomicine aussi efficace que la Vancomycine .



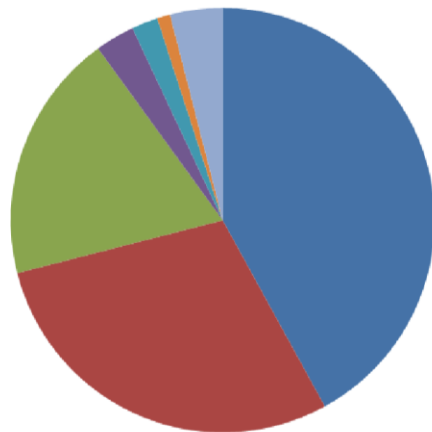
- Traitement : Fidaxomicine vs Vancomycine



2 fois moins de récidence avec la fidaxomicine

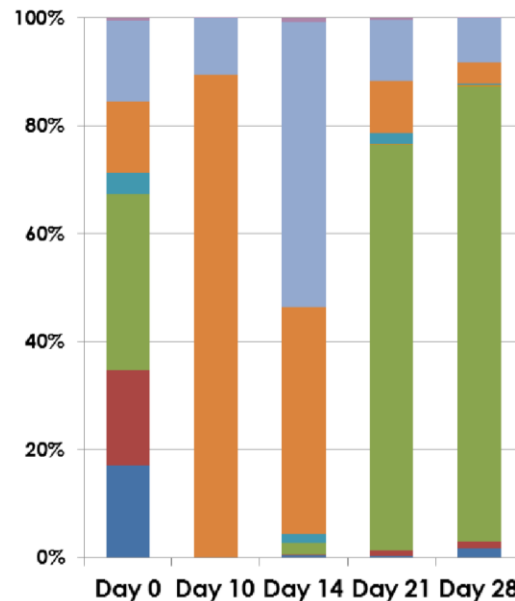
- Traitement : Fidaxomicine vs Vancomycine

Microbial composition of Healthy human colon (n=8)

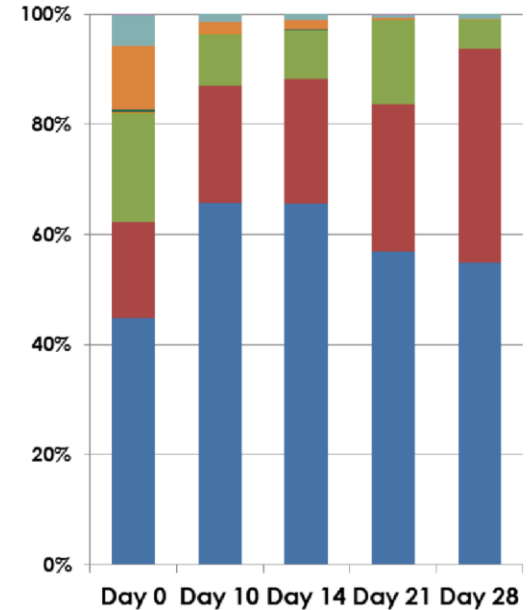


- Clostridia grp XIVa
- Clostridia grp IV
- Bacteroides spp.
- Atopobium
- Bifidobacterium
- Enterobacteria
- others

VANCOMYCIN 125 mg QID, 10 days



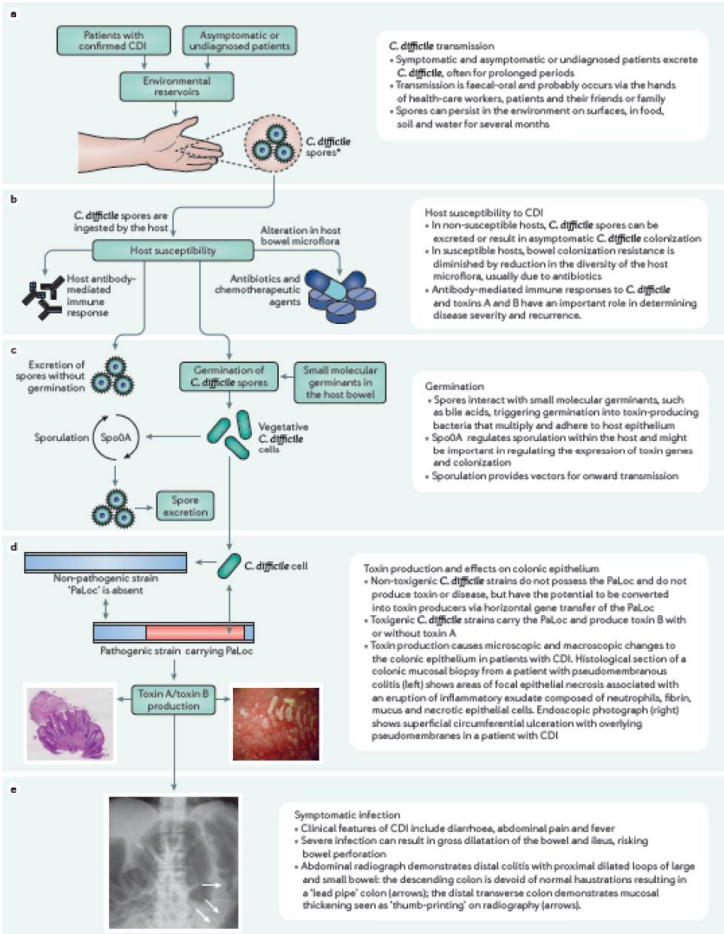
FIDAXOMICIN 200 mg BID, 10 days



Moins d'impact de la fidaxomicine sur le microbiote fécal vs vancomycine

Traitement

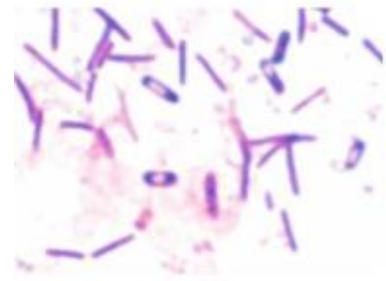
Clostridium difficile



- Conjonction entre : germe /dysbiose/ hôte
- Métronidazole : anti anaérobie (suppression *B. fragilis*)
→ rôle sur le microbiote
- Vancomycine → risque ERV
- Antibiothérapie pour répondre à une antibiothérapie ...



Take home messages



Rôle primordial du microbiote dans la lutte contre les ICD

Etape de colonisation impliquant des adhésives bactériennes spécifiques

Des lésions liées au toxines

Une capacité de virulence supérieure pour certaines lignées (dont la 027) toujours mal comprise...

Résumé

