

3° Congresso NEWMICRO

20 – 22 marzo 2013

Padenghe sul Garda - BS

.....The need for speed:

Il Laboratorio di Microbiologia e
le Urgenze Infettive

WORKSHOP

21 MARZO 2013

Gestione del paziente con infezione
da *Clostridium difficile*:
il ruolo della diagnostica di laboratorio.

Dr. Giuseppe GIULIANI

Direttore UOC Medicina di Laboratorio e Microbiologia

Presidente Coordinamento per la lotta alle Infezioni Ospedaliere (CLIO)

Azienda Ospedaliera "G. Salvini" Garbagnate Milanese (MI)



C. difficile Il microrganismo



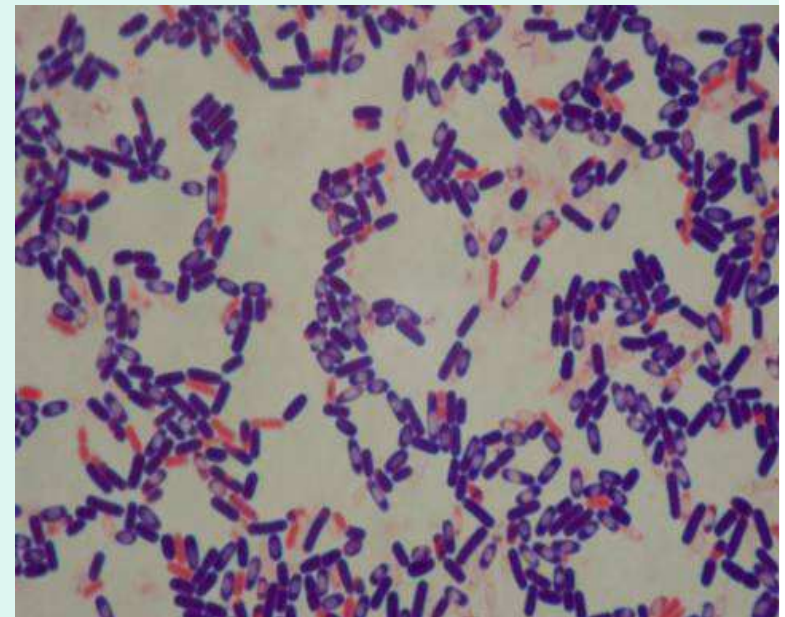
- Caratteristiche generali:

- Gram-positivo
- Anaerobio
- Sporigeno
- Morfologia: Bacillo
- Causa la Colite Pseudomembranosa
- Batterio Commensale
- Resistente alla maggior parte degli antibiotici
- Produce Citotossine e Enterotossine



- Habitats

- Tratto Gastrointestinale degli uomini e degli animali
- Suolo, terreno, terra
- Sedimenti marini

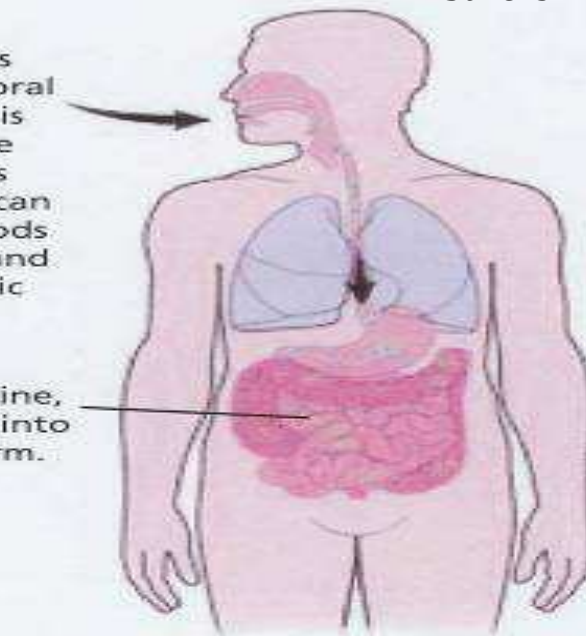


■ Pathogenesis of *C difficile*-associated disease

Sunenshine and McDonald, Cleveland Clin. J. Med., Feb 2006

Clostridium difficile is spread via the fecal-oral route. The organism is ingested either as the vegetative form or as hardy spores, which can survive for long periods in the environment and can traverse the acidic stomach.

In the small intestine, spores germinate into the vegetative form.



In the large intestine, *C difficile*-associated disease can arise if the normal flora has been disrupted by antibiotic therapy.

C difficile

Pseudomembrane

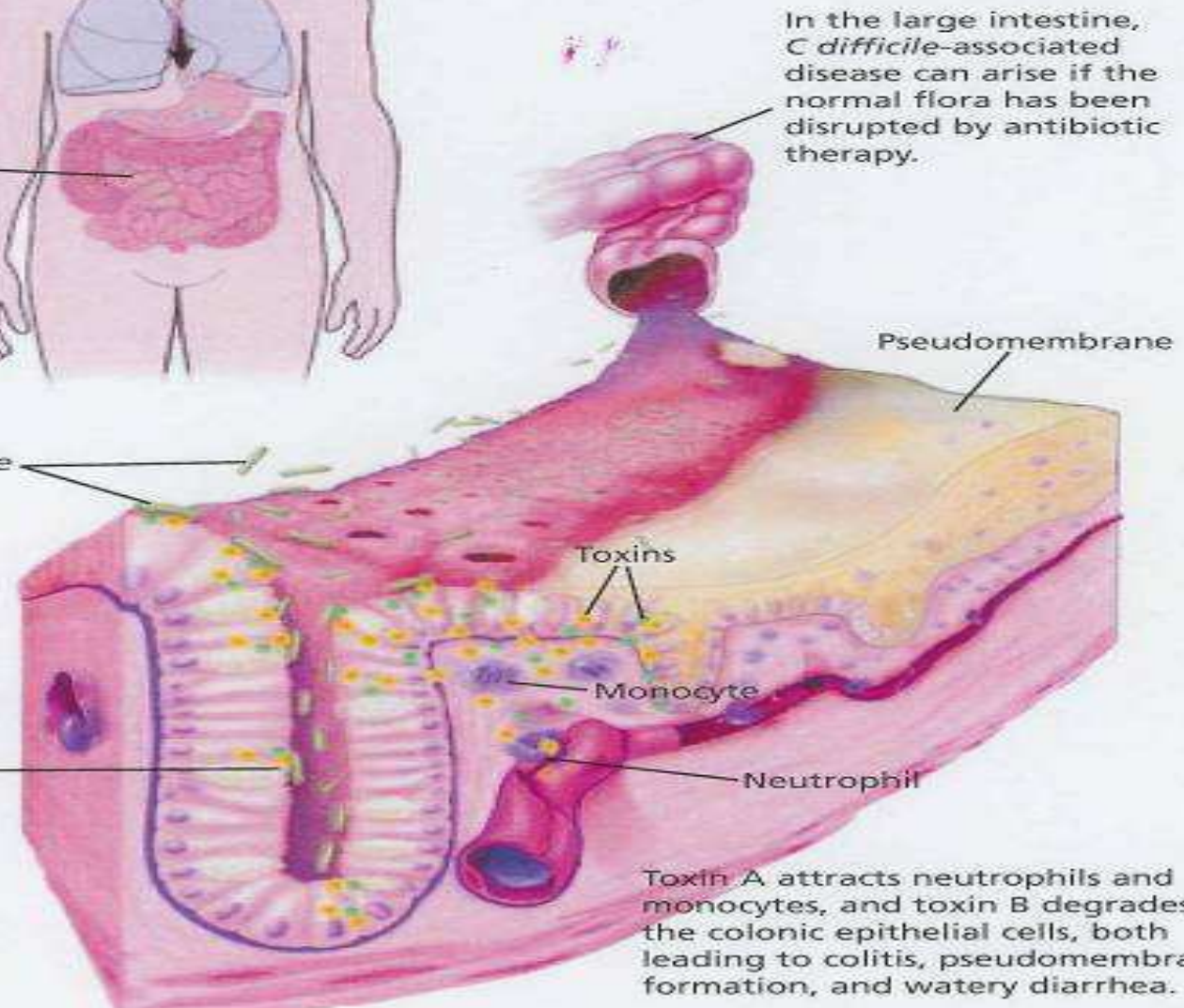
Toxins

Monocyte

Neutrophil

C difficile reproduces in the intestinal crypts, releasing toxins A and B, causing severe inflammation. Mucous and cellular debris are expelled, leading to the formation of pseudomembranes.

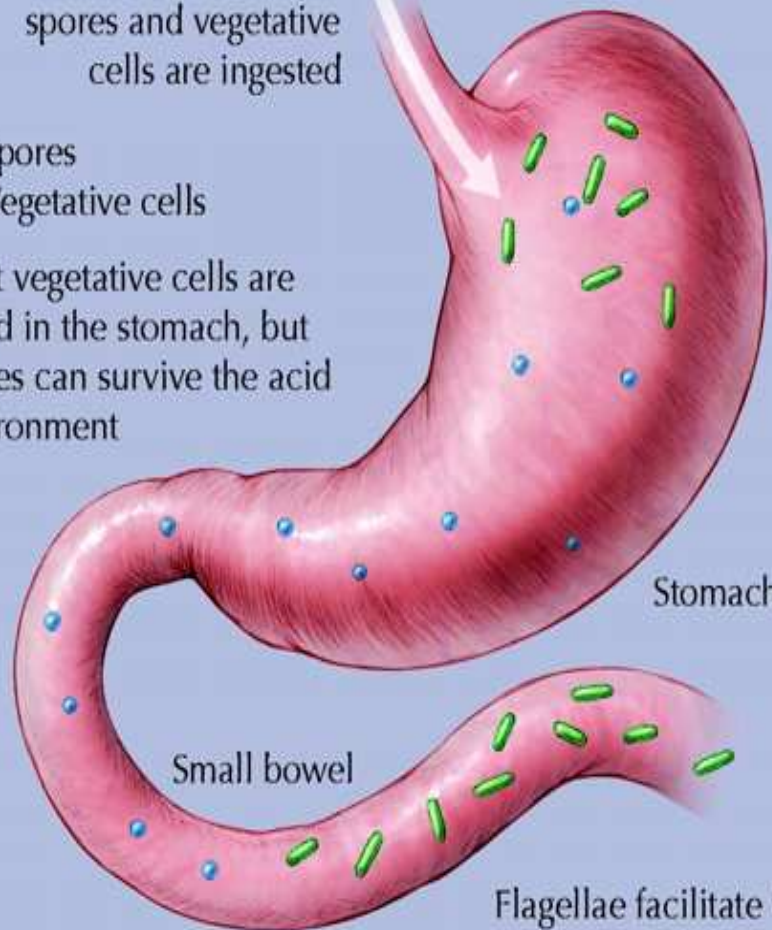
Toxin A attracts neutrophils and monocytes, and toxin B degrades the colonic epithelial cells, both leading to colitis, pseudomembrane formation, and watery diarrhea.



Clostridium difficile
spores and vegetative
cells are ingested

- Spores
- Vegetative cells

Most vegetative cells are
killed in the stomach, but
spores can survive the acid
environment

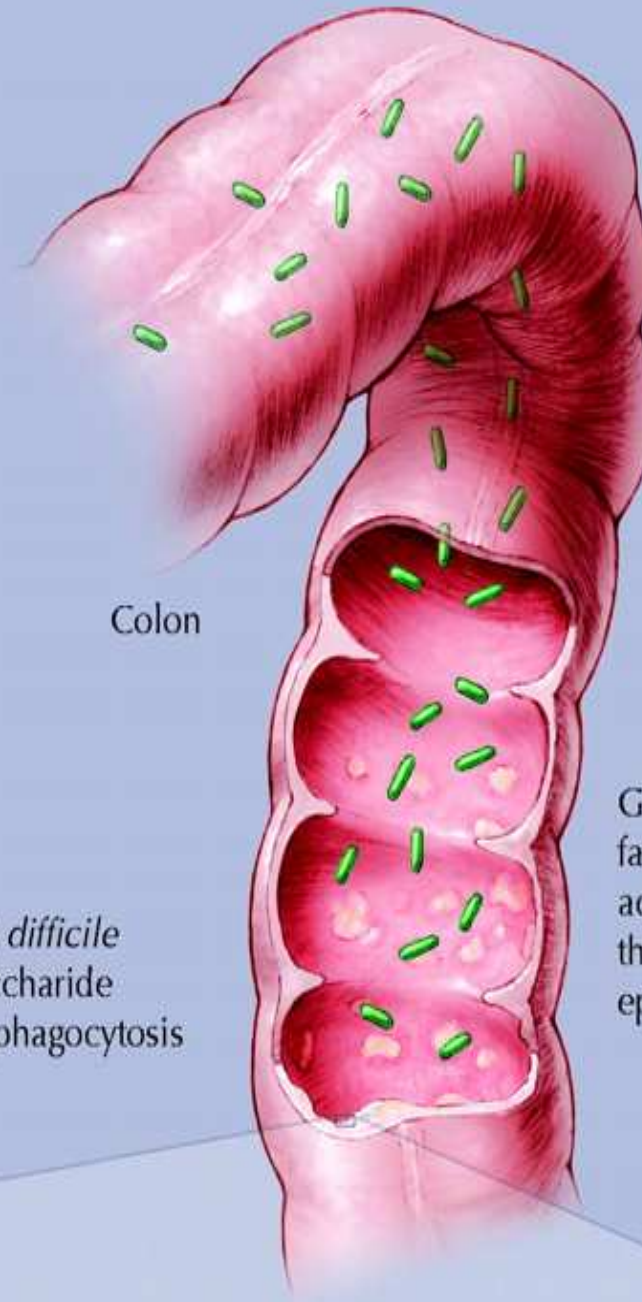


Stomach

Small bowel

C. difficile spores germinate
in the small bowel upon
exposure to bile acids

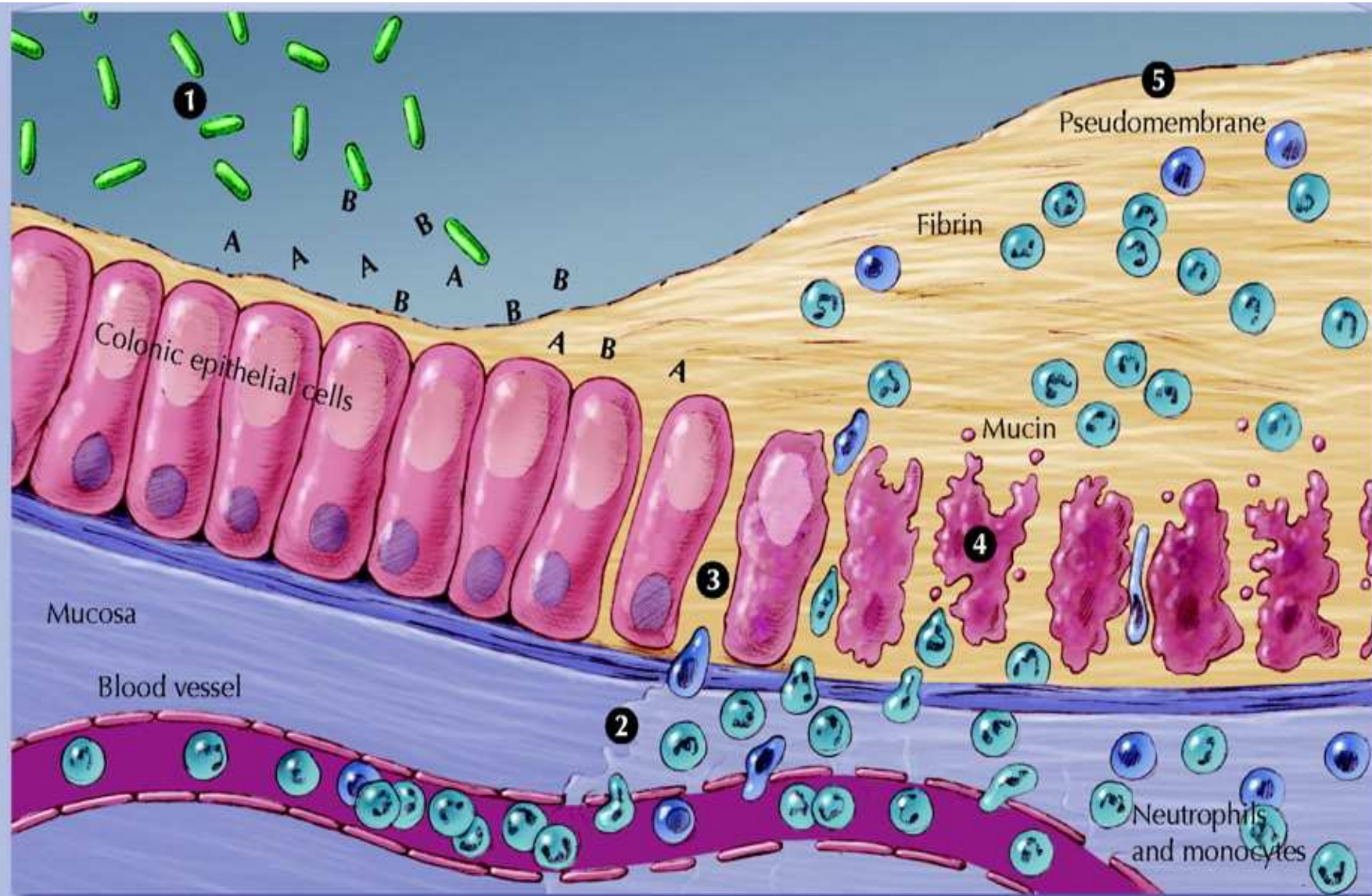
Flagellae facilitate *C. difficile*
movement; a polysaccharide
capsule discourages phagocytosis



Colon

C. difficile
multiplies in
the colon

Gut mucosa
facilitates
adherence to
the colonic
epithelium

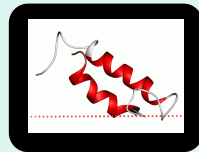


C. difficile vegetative cells produce toxins A and B and hydrolytic enzymes (1). Local production of toxins A and B leads to production of tumour necrosis factor-alpha and proinflammatory interleukins, increased vascular permeability, neutrophil and monocyte recruitment (2),

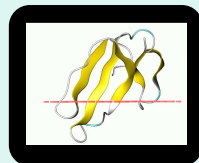
opening of epithelial cell junctions (3) and epithelial cell apoptosis (4). Local production of hydrolytic enzymes leads to connective tissue degradation, leading to colitis, pseudomembrane formation (5) and watery diarrhea.

C. difficile Toxins Produced

- Enterotoxin:



- Toxin A
- Protein toxin released by *C. difficile* in the lower Intestine
- Frequently cytotoxic
- Alters the permeability of the epithelial cells of the intestinal wall.
- Pore forming toxins, secreted by bacteria, form pores in cell membranes causing cells death.



- Cytotoxin:

- Toxin B
- Associated with Inflammation

Reference	Purification method*	Toxin	M_r	M_r subunit	pH stability	Heat stability	Inactivation by proteases	pI
Banno et al. (12, 13)	(NH ₄) ₂ SO ₄ ppt, Sephacryl S-300, DEAE-Sephadex A-25	A	550,000–600,000	190,000–200,000	— ^b	Stable at 37°C; inactivated at 60°C	Trypsin, pronase	—
		B	450,000–500,000	190,000–200,000	—	Stable at 37°C; inactivated at 60°C	Trypsin, pronase	—
Krivan and Wilkins (120)	Thermal affinity chromatography	A	440,000–500,000	—	—	—	—	—
Lonnroth and Lange (139)	(NH ₄) ₂ SO ₄ ppt, Sephacryl S-300, DEAE-Sephadex A-25, affinity chromatography on agarose	A	—	—	—	—	—	—
Pothoulakis et al. (180)	(NH ₄) ₂ SO ₄ ppt, DEAE-Sephacryl CL-6B, HPLC on Mono Q	B	—	50,000	—	—	—	4.3
Rihn et al. (200)	Ultrafiltration, fast liquid anion-exchange chromatography, chromatofocusing, TSK SW-3000	A	52,000	41,500 and 16,000	—	—	—	3.5
Stephen et al. (217)	Electrophoresis, DEAE-Sephacryl CL-6B	A	—	—	—	—	—	—
Sullivan et al. (220); Lyster et al. (143, 145)	Ultrafiltration or (NH ₄) ₂ SO ₄ ppt, DEAE-Sephacryl CL-6B, ppt at pH 5.6 (toxin A), immunoadsorption (toxin B)	A	440,000–500,000	250,000–300,000	Stable at pH 4 and 10	Stable at 37°C; inactivated at 56°C	Trypsin and chymotrypsin	5.2–5.7
		B	360,000–470,000	250,000–300,000	Inactivated at pH 4 and 10	Stable at 37°C; inactivated at 56°C	Trypsin and chymotrypsin	4.1–4.5
Taylor et al. (224)	Ultrafiltration, (NH ₄) ₂ SO ₄ ppt, Sephadex G-200, DEAE-Sephacryl CL-6B	A	—	—	Stable at pH 4 and 10	Inactivated at 56°C	—	—
		B	—	—	Inactivated at pH 4 and 10	Inactivated at 56°C	—	—

* DEAE, Diethylaminoethyl; ppt, precipitation; HPLC, high-pressure liquid chromatography.
^b —, Not reported.

Pseudomembranous Colitis



Host Relationship

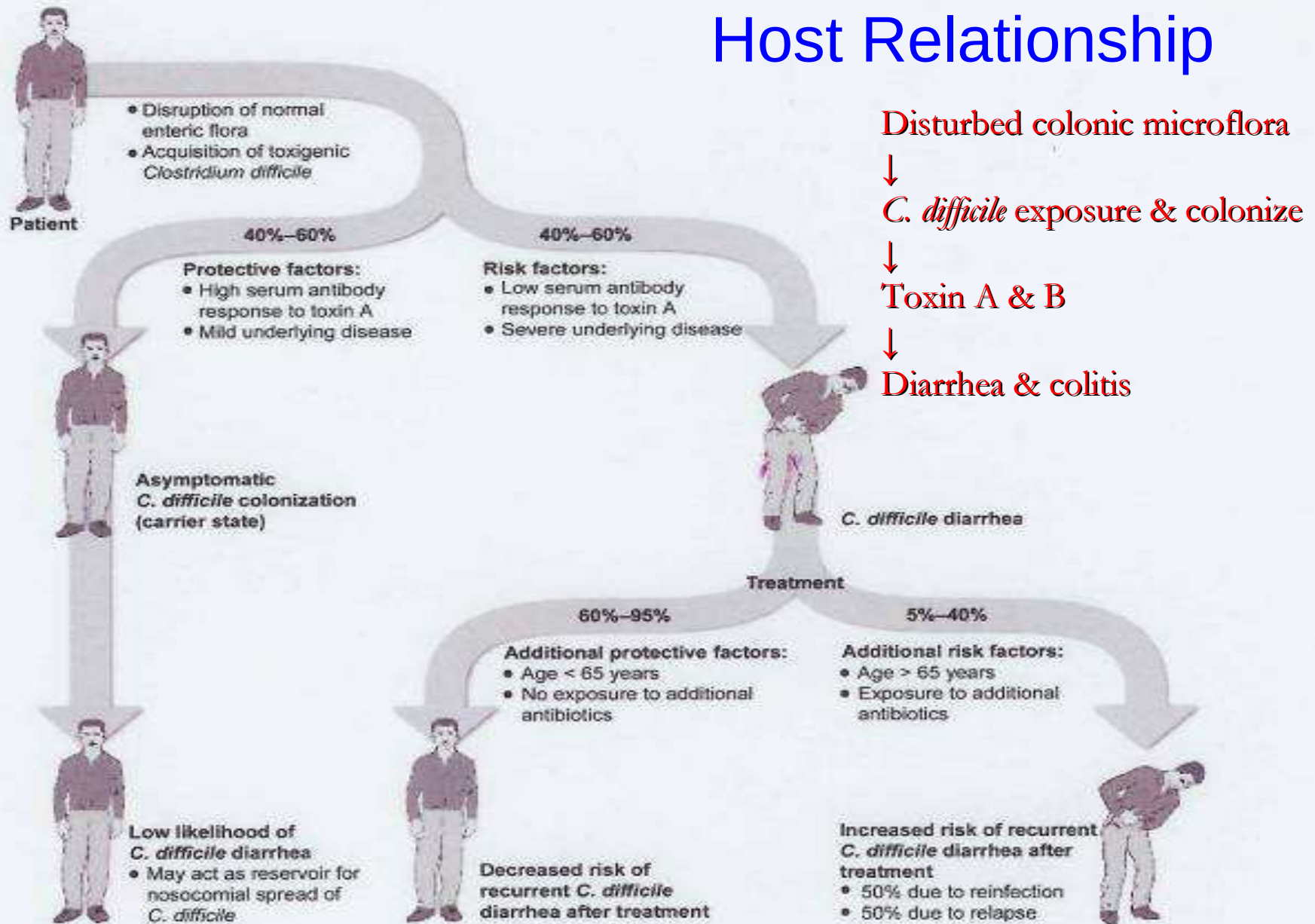


Figure 2. Factors contributing to the development of *Clostridium difficile* colonization and diarrhea following acquisition of a toxigenic strain. Adapted with permission from the following article published by the Canadian Medical Association: Poutanen SM, Simor AE. *Clostridium difficile*-associated diarrhea in adults. CMAJ 2004;171:51–8.

Quadro epidemiologico

prima del 2000 la diarrea associata a *Clostridium difficile* era considerata una malattia fastidiosa, piuttosto che una importante patologia infettiva!!!



Quadro epidemiologico

successivamente al 2000 lo scenario cambia radicalmente!!!

4A WEDNESDAY, MAY 28, 2008

Superbug menaces more at hospitals

ATLANTA (AP) — The number of people hospitalized with a dangerous intestinal superbug has been growing by more than 10,000 cases a year, according to a new study.

The germ, resistant to some antibiotics, has become a regular menace in hospitals and nursing homes. The study found it played a role in nearly 300,000 hospitalizations in 2005, more than double the number in 2000.

The infection, Clostridium difficile, is found in the colon and can cause diarrhea and a more serious intestinal condition known as colitis. It is spread by spores in feces. But the spores are difficult to kill with most conventional household cleaners or antibacterial soap.

C-diff, as it's known, has grown resistant to certain antibiotics that work against other colon bacteria. The result: When patients take those antibiotics, competing bacteria die off and C-diff proliferates.

This virulent strain of C-diff was rarely seen before 2000.

"The nature of this infection is changing. It's more severe," said Dr. L. Clifford McDonald, a Centers for Disease Control and Prevention expert who was not part of the study.

There are other factors that contribute to the rise of C-diff cases, including a larger number of patients who are older and sicker.

"And there may be some overuse and inappropriate use of antibiotics," said Dr. Marya Zilberberg, a University of Massachusetts researcher and lead author of the study.

The Zilberberg study was based on a sample of more than 36 million annual discharges from nongovernmental U.S. hospitals. That data was used to generate the study's national estimates.

The research is being published in the June issue of Emerging Infectious Diseases, a CDC publication.

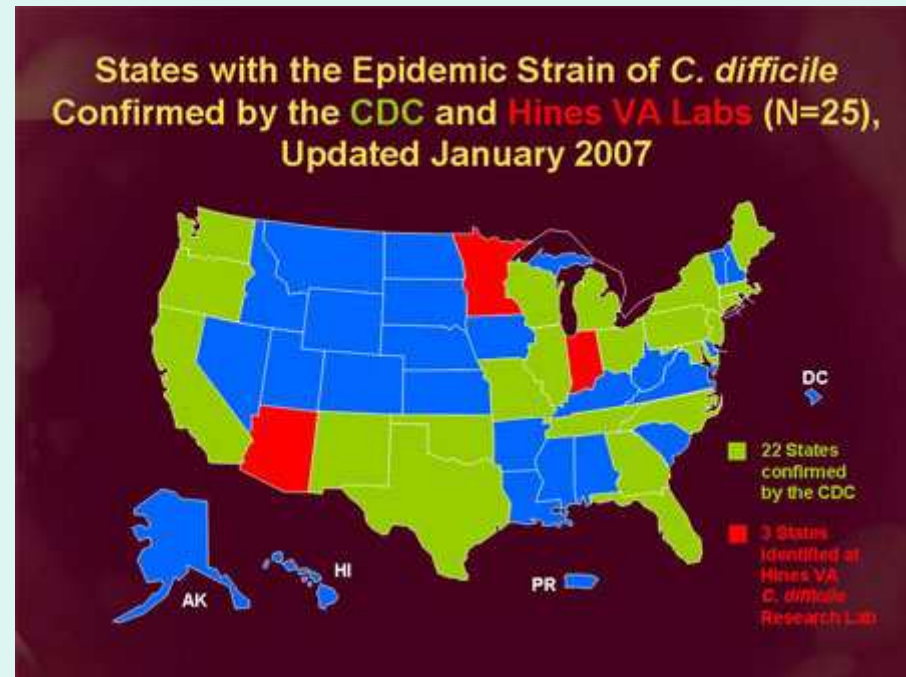
Using other scientists' estimates, the study concluded that 2.3 percent of the cases in 2004 were fatal — about 5,500 deaths. That was nearly double the percentage of C-diff-related cases that ended in death in 2000.

C-diff has become an acute health concern in Canada, where it was blamed for 260 deaths at seven Ontario hospitals recently.

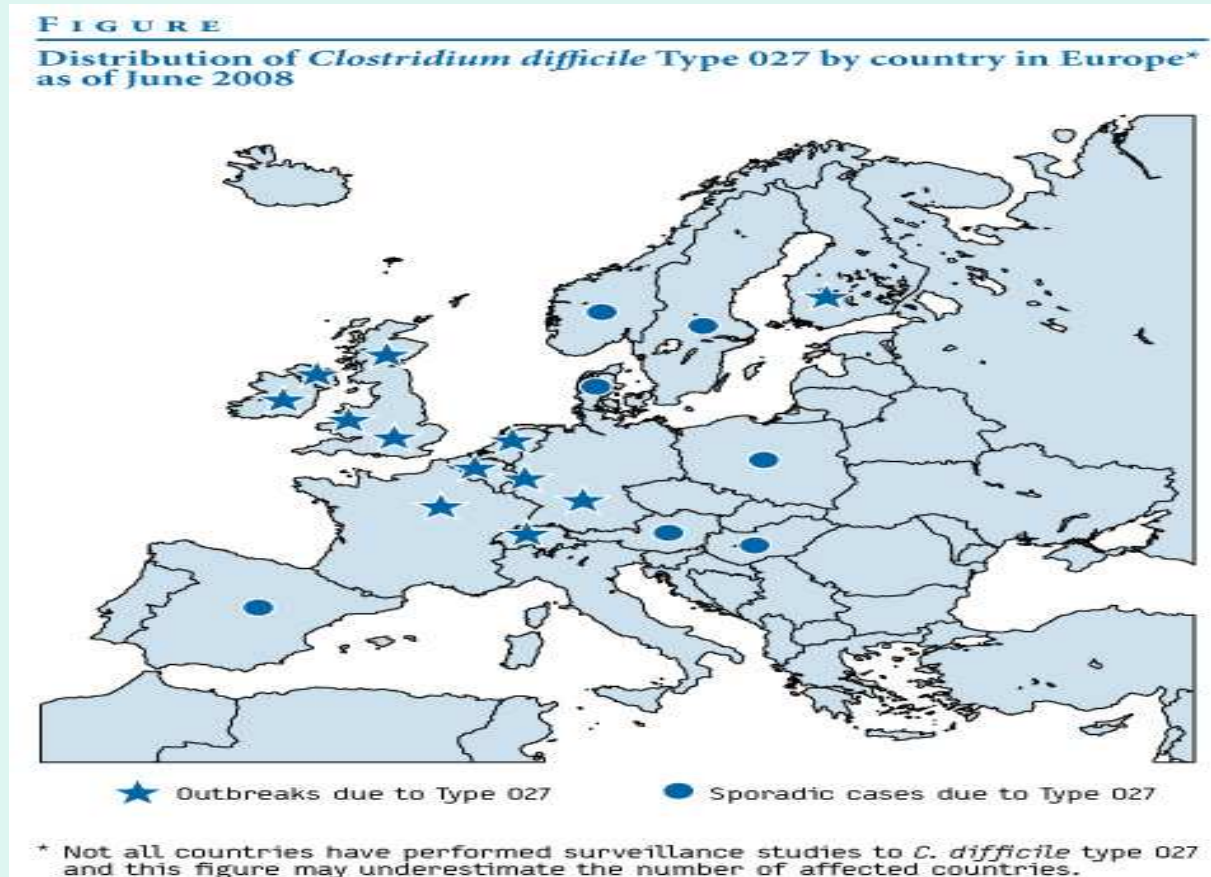
I determinanti del nuovo quadro epidemiologico!!!

❖ In Canada, in concomitanza con l'epidemia manifestatasi all'inizio degli anni 2000, viene isolato un nuovo ceppo ipervirulento identificato con la sigla NAPI(PFGE) o o27(ribotiping), appartenente al tossinotipo III. Il ceppo **iperproduce entrambe le tossine** a causa di una mutazione (delezione) del gene regolatore tdcC e possiede, analogamente ad altri Clostridi, una tossina binaria, la cui azione non è attualmente nota. E' inoltre **resistente ai nuovi fluorochinoloni** attivi sugli anaerobi;

❖ Dal Canada, il ceppo diffonde negli USA (8 epidemie in ospedali di 6 stati diversi) e in numerosi paesi europei, dove si registrano sia infezioni a carattere epidemico (Inghilterra, Galles, Scozia, Irlanda, Belgio, Francia, Germania, Olanda, Svizzera, Danimarca) che casi sporadici (Austria, Polonia, Spagna);



I determinanti del nuovo quadro epidemiologico!!!

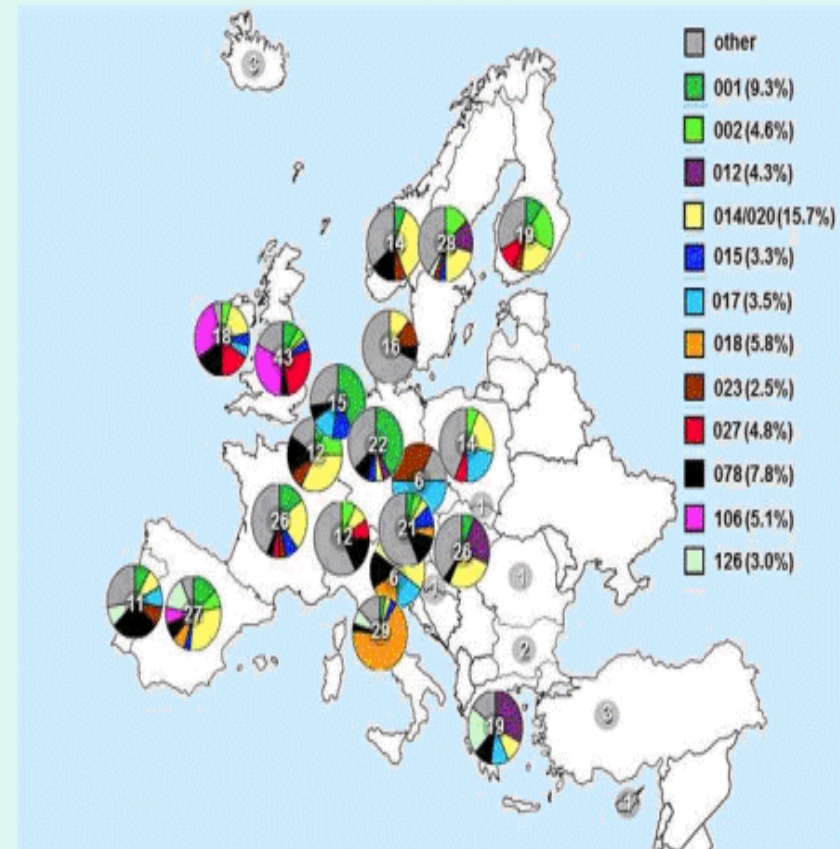


- ❖ A partire dal 2008 si verificano i primi casi di infezioni da CD ribotipo 027 in Australia, Corea del sud, Hong Kong e Costa Rica e ciò fa temere la possibile generale diffusione di questo ceppo ipervirulento.

I determinanti del nuovo quadro epidemiologico!!!

❖ In questi stessi anni in alcuni Paesi europei viene isolato un nuovo ceppo ipervirulento, ribotipo 078, che agisce con un analogo meccanismo di iperproduzione di tossine;

❖ In Italia la comparsa di ceppi di *C.difficile* o27 e o78 è stata segnalata per la prima volta nel corso del 2008;



I determinanti del nuovo quadro epidemiologico!!!

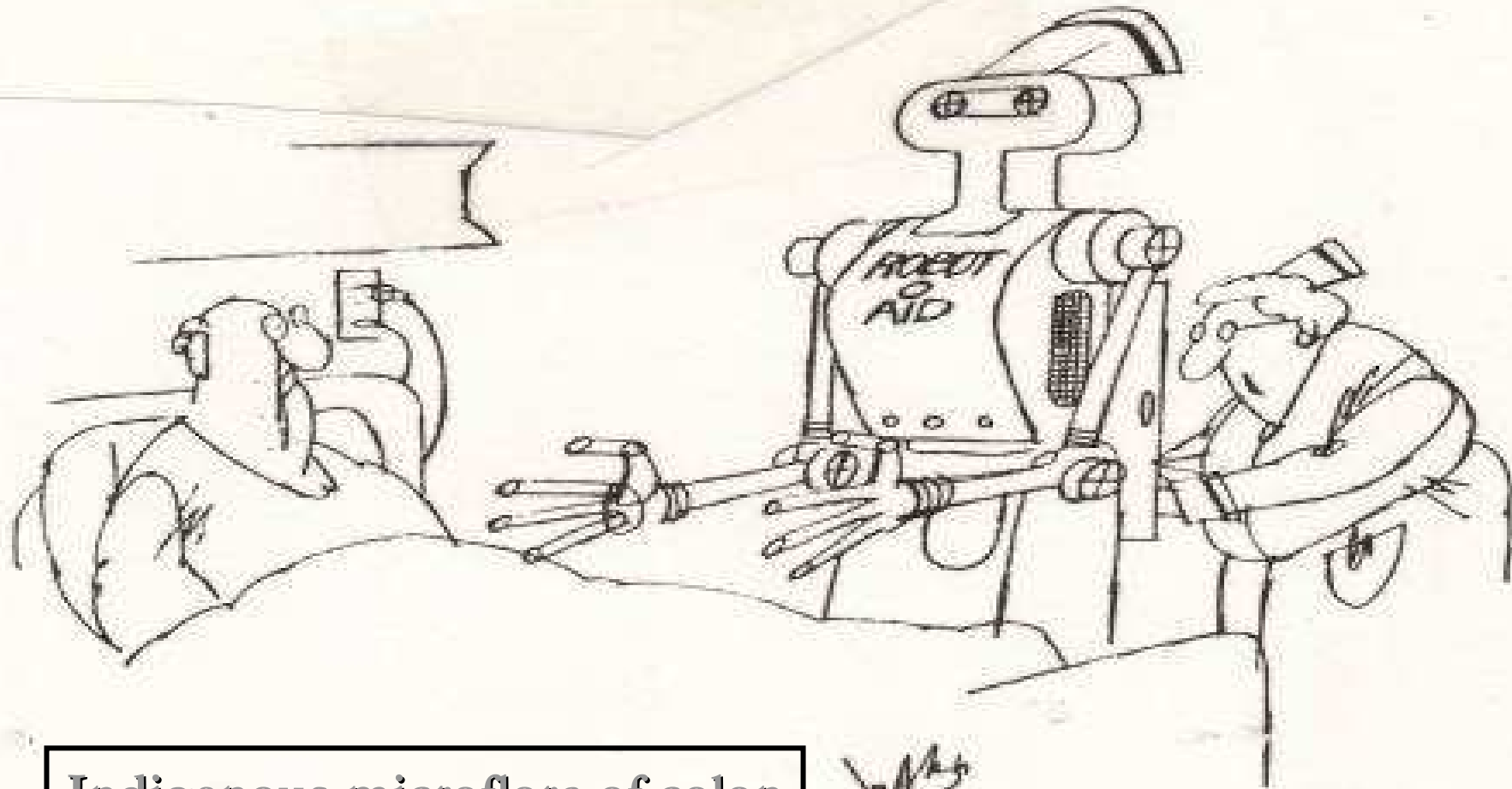
❖ Il riscontro in ambito veterinario di ceppi ipervirulenti nel bestiame (bovini, suini) e negli animali domestici (cani, gatti) potrebbe indicare la presenza di un reservoir che alimenta i sempre più frequenti casi di origine comunitaria. Una delle connotazioni recenti della nuova pandemia è infatti l'alta incidenza di casi di origine comunitaria (da meno di 1 caso/100.000 persone nel 1999 a oltre 22 casi nel 2004) che si manifestano, a volte con carattere di notevole gravità, anche in soggetti privi dei noti fattori di rischio per l'infezione, compresi bambini di età inferiore ai due anni, adulti giovani e puerpere;



I determinanti del nuovo quadro epidemiologico!!!

❖ Un recente report di sorveglianza effettuato in baviera nel periodo 2000-2006 evidenzia una forte correlazione tra aumentato impiego di **ciprofloxacina** sul territorio, soprattutto nel trattamento di infezioni delle vie urinarie, e casi diagnosticati di CDI di tipo comunitario.





Indigenous microflora of colon
1 trillion bacteria per gram!

"I've programmed it for your enema."

Dog Sniffing C Difficile?



HighTechnologyScrubs.com

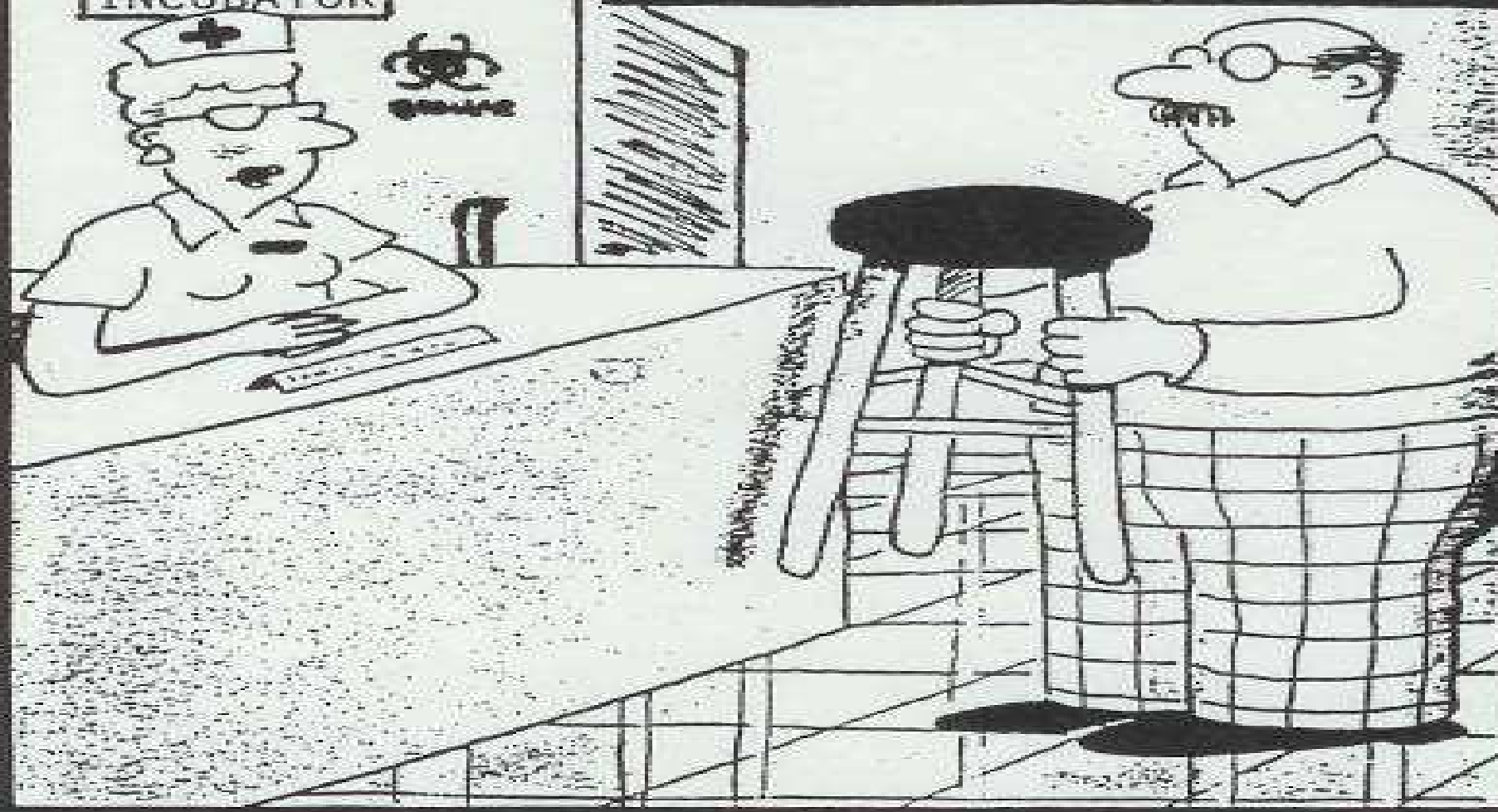
HENDERHALL

UNMC
MICROBIOLOGY
LAB

INCUBATOR



LABORATOR TESTING



"That's not quite the stool sample
we had in mind, Mr. O'Donnell."

Diagnosi di Infezione da *Clostridium difficile*

Caso di CDAD/CDI:

- paziente con diarrea e presenza di *C. difficile* tossinogenico nelle feci, accertata mediante test microbiologici;
- visualizzazione di pseudomembrane all'esame endoscopico o diagnosi istopatologica di colite pseudomembranosa;
- diagnosi di megacolon tossico evidenziato mediante criteri clinici e indagini radiologiche (RX o TC) e test sulle feci positivo per tossine/*C. difficile* tossinogenico.

Caso di CDAD/CDI ricorrente (recidiva): nuovo episodio che si verifica entro 8 settimane dopo la completa risoluzione di un precedente episodio. Le recidive si registrano nel 20% dei pazienti che hanno un episodio di CDI, nel 40% di coloro che hanno due episodi e nel 60% dei soggetti con tre o più episodi.²⁸

Caso grave di CDAD/CDI: comparsa di uno o più degli eventi sottoelencati entro 30 giorni dall'insorgenza:

- ricovero in unità terapia intensiva per complicanze (es. shock);
- colectomia per megacolon tossico, perforazione ecc.;
- decesso.

Diagnosi di Infezione da *Clostridium difficile*

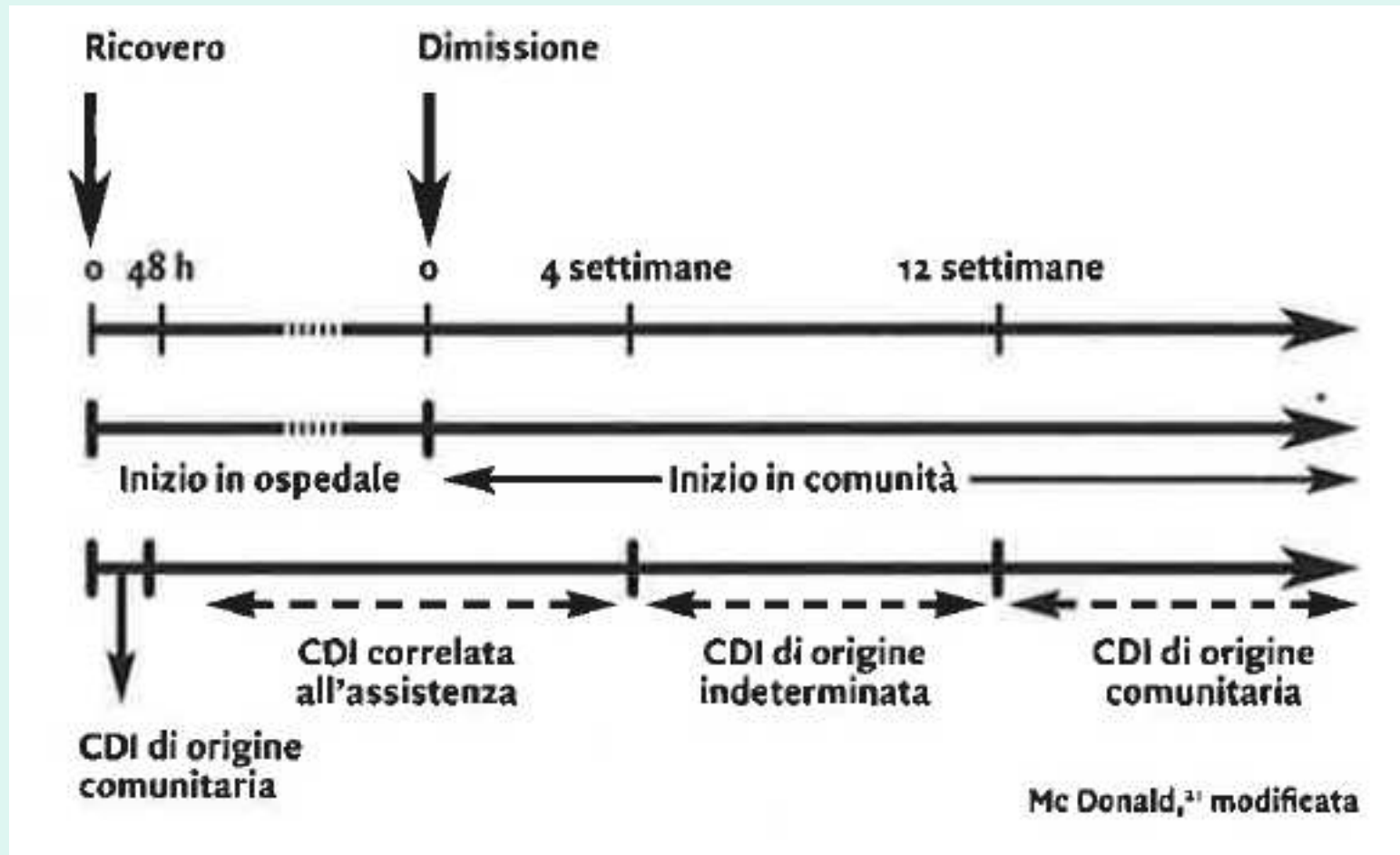
CDAD/CDI correlata all'assistenza, insorta in ospedale o in struttura residenziale (Healthcare Facility associated/HCF onset): patologia insorta dopo più di 48 ore dal ricovero in ospedale o dall'ingresso in una struttura residenziale.

CDAD/CDI correlata all'assistenza, insorta in comunità (Healthcare Facility associated/Community onset): patologia insorta in comunità o entro 48 ore dal ricovero in paziente dimesso da un ospedale o da una struttura residenziale da non più di 4 settimane.

CDAD/CDI di origine indeterminata: patologia insorta tra 4 e 12 settimane dopo un ricovero.

CDAD/CDI di origine comunitaria (Community associated): patologia insorta in comunità o entro 48 ore dal ricovero in paziente che non sia stato ricoverato in ospedale/struttura sanitaria nei precedenti tre mesi.

Diagnosi di Infezione da *Clostridium difficile*



Diagnosi di Laboratorio

- Ricerca della tossina B mediante coltura di tessuti (*Tissue Culture Cytotoxin Assay*, TCCA): ritenuta il gold standard;
- Ricerca del cosiddetto antigene comune (glutammato deidrogenasi – GDH);
- Ricerca delle tossine A e B (EIA/IC);
- Coltura per *C. difficile*;
- Amplificazione degli acidi nucleici (NAT)

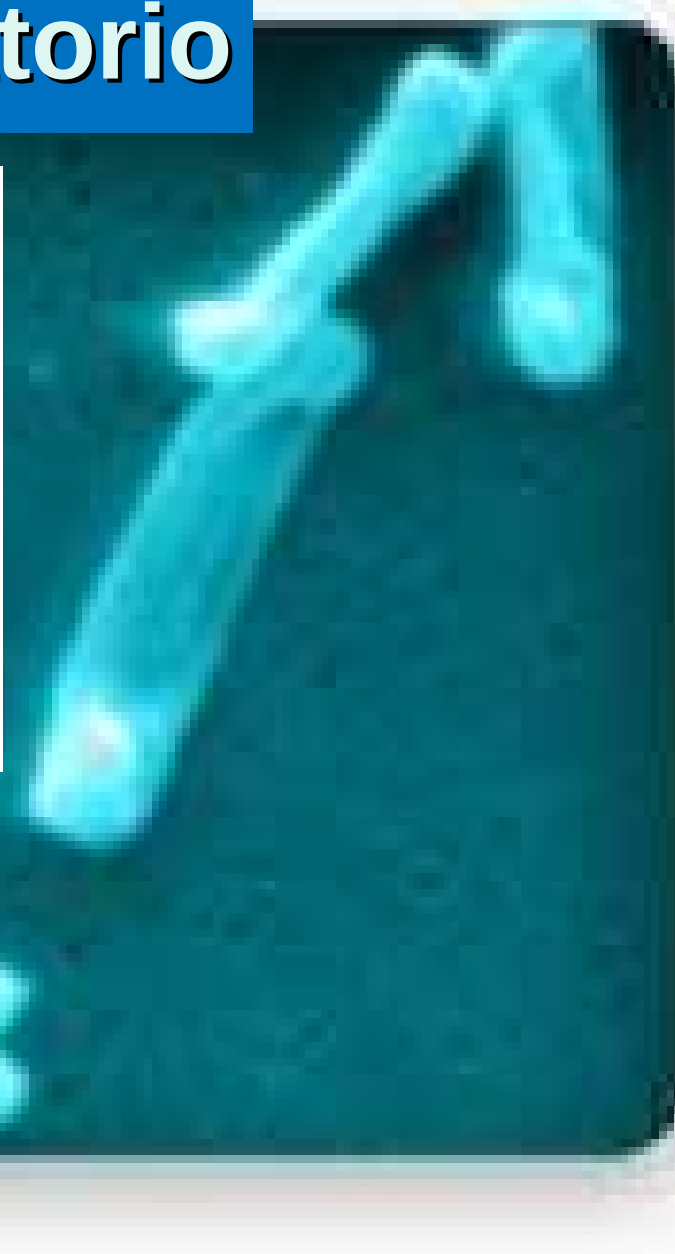


Diagnosi di Laboratorio

Test di laboratorio per diagnosi di infezione da *C. difficile*

Test	Target	Tempo richiesto	Sensibilità %	Specificità %	Note
Citotossina	Tossina B	1-3 gg	95	90-95	Poco usato. Tempi lunghi
Coltura tossinogenica	<i>C. difficile</i> tossinogenico	3-5 gg	> 95	80-90	Poco usato. Tempi lunghi
Tox A o A/B	Tossina	Ore	75-80	97-98	Rapido. Molto usato. Possibili risultati falsi neg
GDH	<i>C. difficile</i>	Ore	95-100	70-80	
GDH + Tox A/B	<i>C. difficile</i> e tossina	Ore	95-100	97-98	Risultati legati al test per la tossina
RT-PCR	<i>C. difficile</i> tox +	Ore	> 98	80-99	

Da JG Bartlett,⁸⁶ modificata.



I LIMITI DELLA DIAGNOSI DI LABORATORIO

Diagnosis of *Clostridium difficile* infection by toxin detection kits: a systematic review

The Lancet, 2008

Tim Planche, Adamma Aghaizu, Richard Holliman, Peter Riley, Jan Poloniecki, Aodhán Breathnach, Sanjeev Krishna

REVIEWS

REVIEW

10.1111/j.1469-0691.2009.03098.x

European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): Data review and recommendations for diagnosing *Clostridium difficile*-infection (CDI)

M. J. T. Crobach¹, O. M. Dekkers², M. H. Wilcox³ and E. J. Kuijper¹

1) Department of Medical Microbiology, 2) Department of Clinical Epidemiology, Leiden University Medical Center, Leiden, the Netherlands and

3) Department of Microbiology, Old Medical School, Leeds General Infirmary, Leeds, UK

MEDICAL MICROBIOLOGY • CID 2011;52 (15 June) • 1451

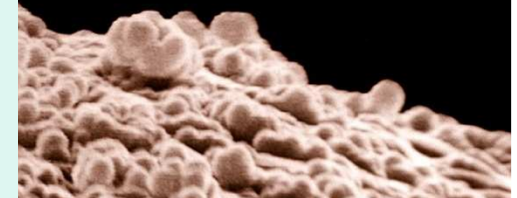
MEDICAL MICROBIOLOGY

L. Barth Reller and Melvin P. Weinstein, Section Editors

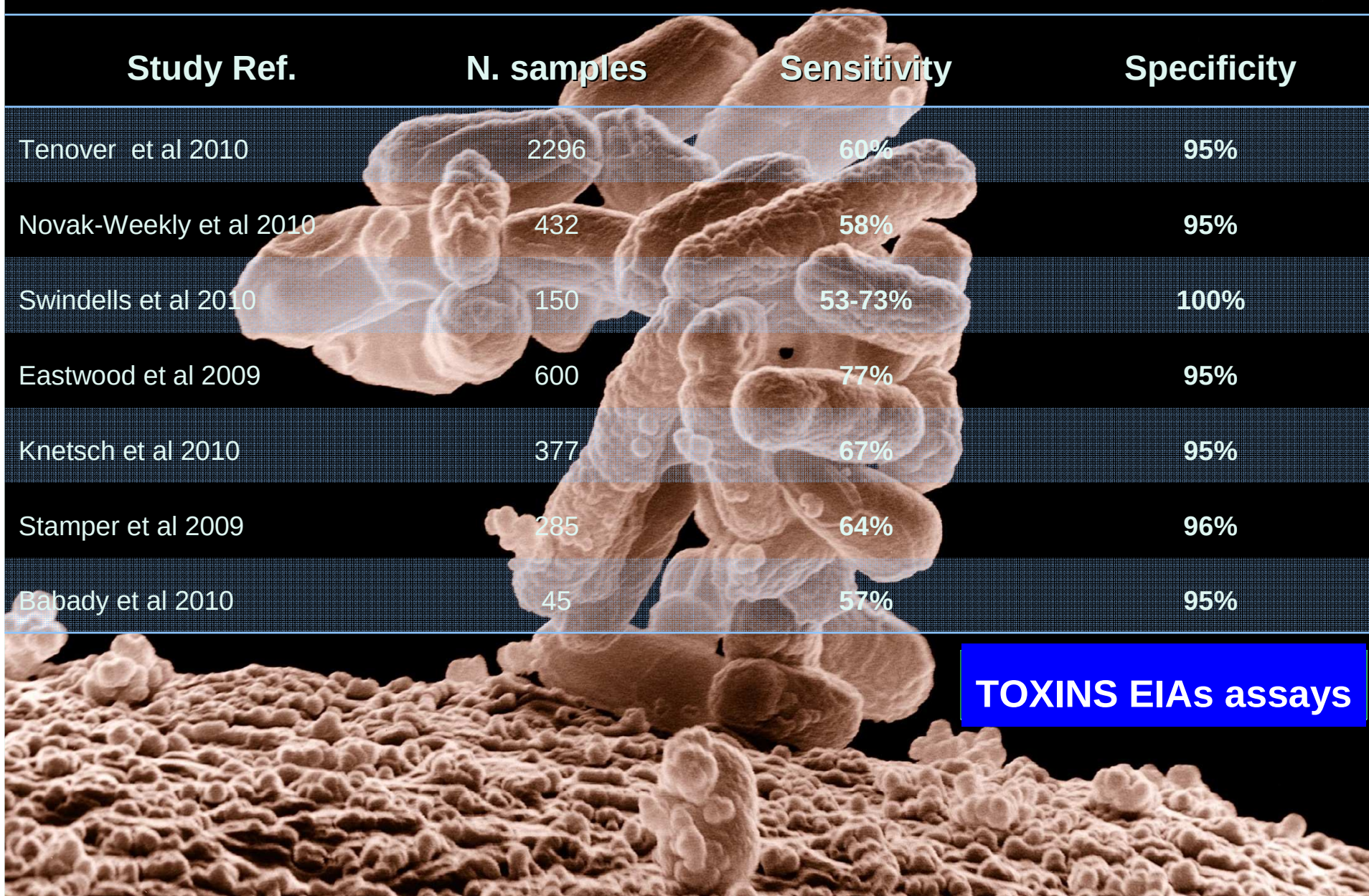
Effective Utilization of Evolving Methods for the Laboratory Diagnosis of *Clostridium difficile* Infection

Anna M. Kufelnicka¹ and Thomas J. Kirn^{1,2}

¹Department of Medicine, Division of Infectious Disease, ²Department of Pathology and Laboratory Medicine, University of Medicine and Dentistry of New Jersey-Robert Wood Johnson Medical School, New Brunswick, New Jersey



I LIMITI DELLA DIAGNOSI DI LABORATORIO



Study Ref.	N. samples	Sensitivity	Specificity
Tenover et al 2010	2296	60%	95%
Novak-Weekly et al 2010	432	58%	95%
Swindells et al 2010	150	53-73%	100%
Eastwood et al 2009	600	77%	95%
Knetsch et al 2010	377	67%	95%
Stamper et al 2009	285	64%	96%
Babady et al 2010	45	57%	95%

TOXINS EIAs assays

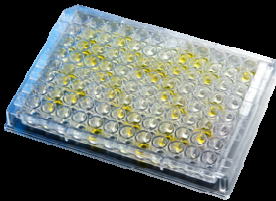
I NUOVI TESTS PER LA DIAGNOSI DI LABORATORIO

GDH EIA

HIGH SENSITIVITY

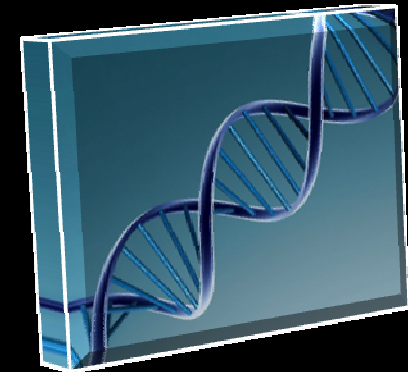
HIGH NPV

> 95%



NAAT

DNA amplification
(PCR or LAMP)
targeting TOXINS
GENES



HIGH SENSITIVITY
&
SPECIFICITY

Le Linee Guida raccomandano l'utilizzo di tecniche più sensibili
anche suggerendo l'uso di test di combinazione

2010



**A Practical Guidance Document for the Laboratory Detection of
Toxigenic *Clostridium difficile*
September 21, 2010***

2011



2010

INFECTION CONTROL AND HOSPITAL EPIDEMIOLOGY MAY 2010, VOL. 34, NO. 5

SHEA-IDS A GUIDELINE

**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)**

Stuart H. Cohen, MD; Dale N. Gerding, MD; Stuart Johnson, MD; Gáran P. Kelly, MD; Vivian G. Loo, MD;
L. Clifford McDonald, MD; Jacques Pepin, MD; and Mark H. Wilcox, MD

Le Linee Guida raccomandano l'utilizzo di tecniche più sensibili anche suggerendo l'uso di test di combinazione

Test di laboratorio per diagnosi di infezione da *C. difficile*

Test	Target	Tempo richiesto	Sensibilità %	Specificità %	Note
Citotossina	Tossina B	1-3 gg	95	90-95	Poco usato. Tempi lunghi
Coltura tossinogenica	<i>C. difficile</i> tossinogenico	3-5 gg	> 95	80-90	Poco usato. Tempi lunghi
Tox A o A/B	Tossina	Ore	75-80	97-98	Rapido. Molto usato. Possibili risultati falsi neg
GDH	<i>C. difficile</i>	Ore	95-100	70-80	
GDH + Tox A/B	<i>C. difficile</i> e tossina	Ore	95-100	97-98	Risultati legati al test per la tossina
RT-PCR	<i>C. difficile</i> tox +	Ore	> 98	80-99	

Da JG Bartlett,²⁸ modificata.

GimPIOS — Suppl. vol 1, n. 2, aprile-giugno 2011

2011



3 TESTING
ALGORITHM
PROPOSED
(A-B-C)

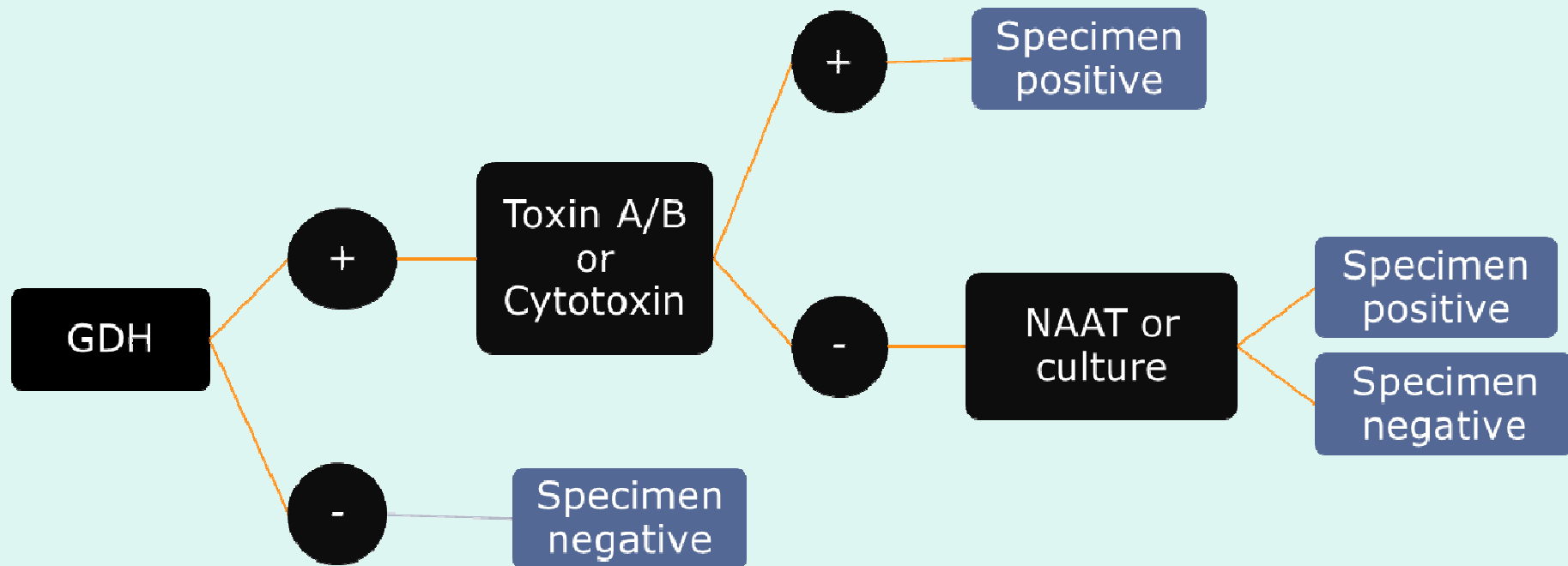


**A Practical Guidance Document for the Laboratory Detection of
Toxigenic *Clostridium difficile*
September 21, 2010***

HIGHLIGHTS

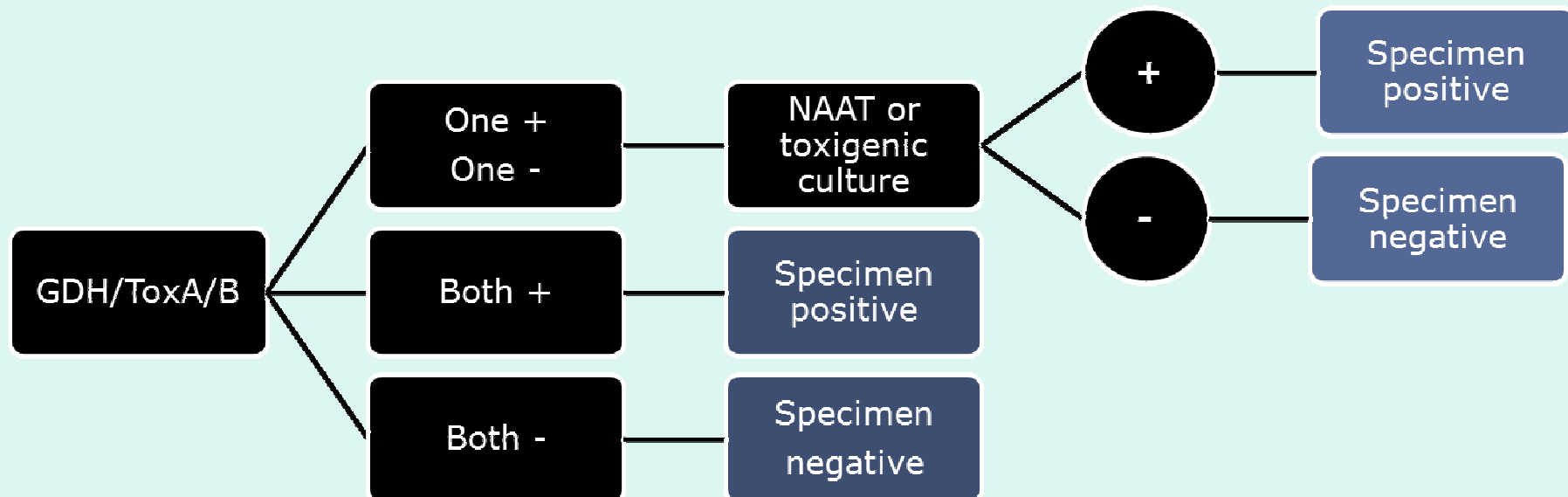
- Toxin A/B EIA for *C.difficile* diagnosis is insensitive
 - no longer recommended as a stand alone test
- GDH antigen assays are good screening tests for CDI
 - High sensitivity and High NPV
- Positive GDH assay results must be confirmed with TC or NAAT
- Laboratories can also use a **NAAT** to detect *C.difficile* toxin genes as a **stand alone diagnostic test**
- **Test only patients with ≥ 3 non-formed stool in 24h** (unless obstruction suspected)
- **Do not test for a cure!**
- **Do not repeat testing if negative!**
- If a 2 or 3 step algorithm is used, preliminary reports indicating the result of the GDH are likely to be misleading.

ASM GDH Screen Algorithm (A)



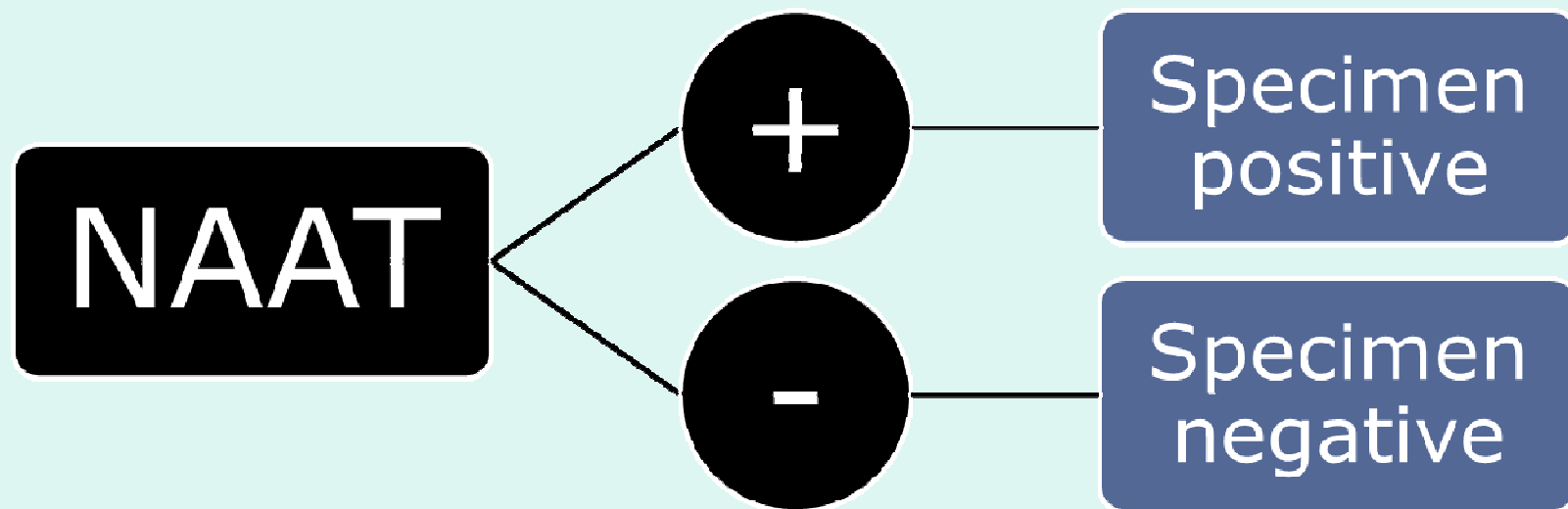
A Practical Guidance Document for the Laboratory Detection of
Toxigenic Clostridium difficile
September 21, 2010*

ASM GDH-Toxin A/B combo algorithm (B)

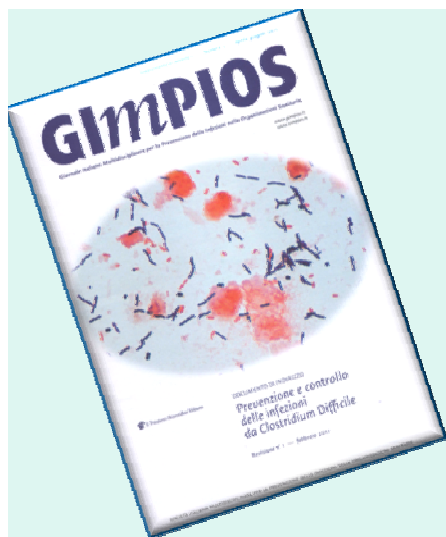


A Practical Guidance Document for the Laboratory Detection of
Toxigenic Clostridium difficile
September 21, 2010*

ASM NAAT Stand alone test (C)



**A Practical Guidance Document for the Laboratory Detection of
Toxigenic Clostridium difficile
September 21, 2010***



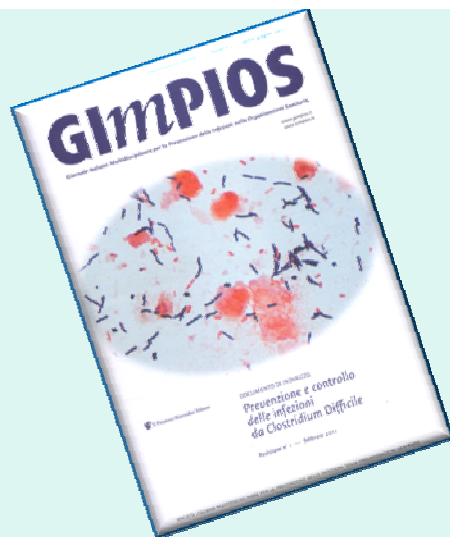
Prevenzione e Controllo delle Infezioni da *C.difficile*



OTTOBRE 2011

- ✓ La diagnosi si basa sulla ricerca nelle feci di *C.difficile* e/o di suoi antigeni, tossine o acidi nucleici. La ricerca di indici di reazione infiammatoria nelle feci (leucociti, lattoferrina) è spesso positiva, ma non è patognomonica di infezione da *C.difficile*
- ✓ ...alcuni sistemi proposti di recente in commercio che utilizzano la tecnica LAMP hanno costi unitari paragonabili ai migliori sistemi in IC per la ricerca combinata di GDH e tossine
- ✓ Una revisione dei principali sistemi presenti in commercio per la rilevazione delle tossine di *C.difficile* con metodi immunometrici (EIA/IC) giunge alle seguenti conclusioni:
 - ✓ nessuno di essi è idoneo come unico test per la diagnosi di laboratorio di infezioni da *C.difficile* (proposto algoritmo)
 - ✓ è probabile che solo i nuovi test NAT soddisfino tale requisito.

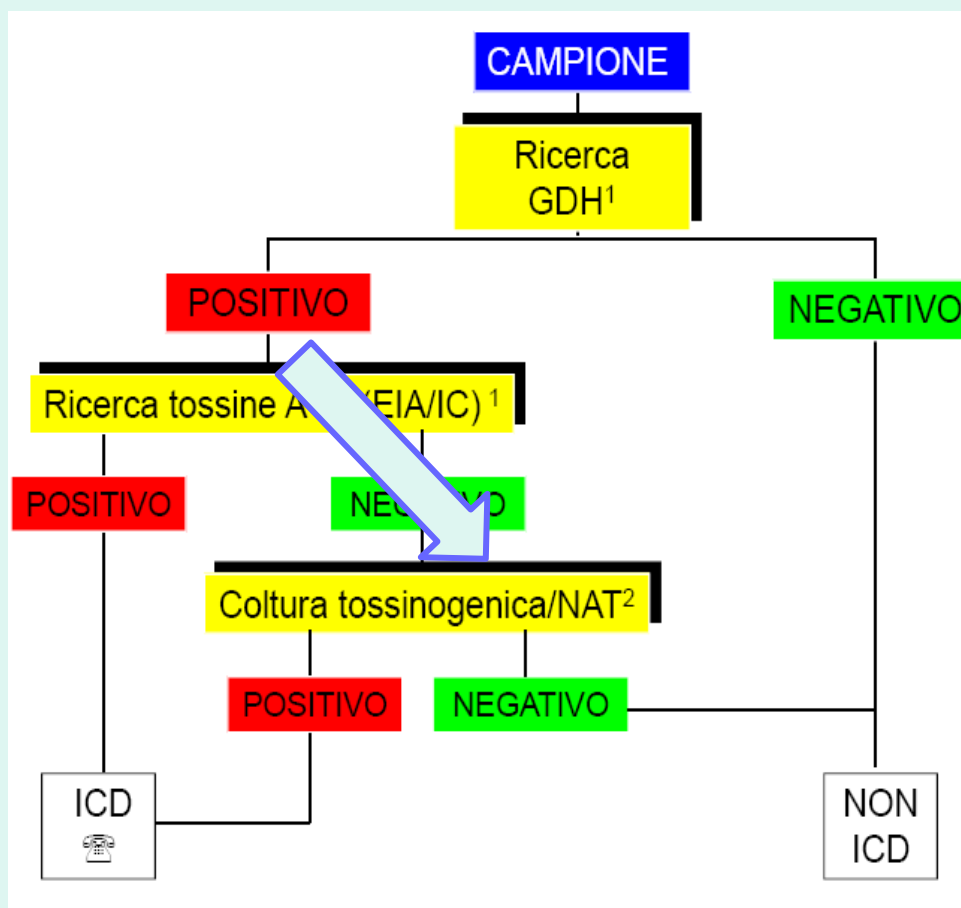




Prevenzione e Controllo delle Infezioni da *C.difficile*



l'algoritmo diagnostico che ... sembra essere attualmente l'approccio più razionale alla diagnosi microbiologica di CDI è:





Prevenzione e Controllo delle Infezioni da *C.difficile*



2013

Guidelines for Diagnosis, Treatment, and Prevention of *Clostridium difficile* Infections

Christina M. Surawicz, MD¹, Lawrence J. Brandt, MD², David G. Binion, MD³, Ashwin N. Ananthakrishnan, MD, MPH⁴, Scott R. Curry, MD⁵, Peter H. Gilligan, PhD⁶, Lynne V. McFarland, PhD^{7,8}, Mark Mellow, MD⁹ and Brian S. Zuckerbraun, MD¹⁰

Clostridium difficile infection (CDI) is a leading cause of hospital-associated gastrointestinal illness and places a high burden on our health-care system. Patients with CDI typically have extended lengths-of-stay in hospitals, and CDI is a frequent cause of large hospital outbreaks of disease. This guideline provides recommendations for the diagnosis and management of patients with CDI as well as for the prevention and control of outbreaks while supplementing previously published guidelines. New molecular diagnostic stool tests will likely replace current enzyme immunoassay tests. We suggest treatment of patients be stratified depending on whether they have mild-to-moderate, severe, or complicated disease. Therapy with metronidazole remains the choice for mild-to-moderate disease but may not be adequate for patients with severe or complicated disease. We propose a classification of disease severity to guide therapy that is useful for clinicians. We review current treatment options for patients with recurrent CDI and recommendations for the control and prevention of outbreaks of CDI.

Am J Gastroenterol advance online publication, 26 February 2013; doi:10.1038/ajg.2013.4

2013

Prevenzione e Controllo delle Infezioni da *C.difficile*

Guidelines for Diagnosis, Treatment, and Prevention of *Clostridium difficile* Infections

Christina M. Surawicz, MD¹, Lawrence J. Brandt, MD², David G. Binion, MD³, Ashwin N. Ananthakrishnan, MD, MPH⁴, Scott R. Curry, MD⁵, Peter H. Gilligan, PhD⁶, Lynne V. McFarland, PhD^{7,8}, Mark Mellow, MD⁹ and Brian S. Zuckerbraun, MD¹⁰

Table 2. Diagnostic testing for *C. difficile*

Test	Sensitivity	Specificity	Availability	Expense ^a	Utilization
<i>C. difficile</i> culture	Low	Moderate	Limited	\$5–10	No diagnostic use; only toxigenic organisms cause disease
Toxigenic culture	High	High	Limited	\$10–30	Reference method Epidemiologic tool Limited diagnostic use
CCNA	High	High	Limited	\$15–25	Reference method Limited diagnostic use
GDH	High	Low	Widely	\$5–15	Diagnostically as a screening test; must be confirmed
Toxin EIA tests	Low	High	Widely	\$5–15	Must detect toxins A + B; inferior sensitivity
NAATs	High	High	Widely	\$20–50	Use only in acute disease; false positives of concern

CCNA, *C. difficile* cytotoxin neutralization assay; GDH, glutamate dehydrogenase; EIA, enzyme immunoassay; NAAT, nucleic acid amplification tests.

^aCost of goods; does not reflect laboratory charges.

2013

Guidelines for Diagnosis, Treatment, and Prevention of *Clostridium difficile* Infections

Christina M. Surawicz, MD¹, Lawrence J. Brandt, MD², David G. Binion, MD³, Ashwin N. Ananthakrishnan, MD, MPH⁴, Scott R. Curry, MD⁵, Peter H. Gilligan, PhD⁶, Lynne V. McFarland, PhD^{7,8}, Mark Mellow, MD⁹ and Brian S. Zuckerbraun, MD¹⁰

Table 1. Summary and strength of recommendations

Diagnostic tests

1. Only stools from patients with diarrhea should be tested for *Clostridium difficile*. (Strong recommendation, high-quality evidence)
2. Nucleic acid amplification tests (NAAT) for *C. difficile* toxin genes such as PCR are superior to toxins A+B EIA testing as a standard diagnostic test for CDI. (Strong recommendation, moderate-quality evidence)
3. Glutamate dehydrogenase (GDH) screening tests for *C. difficile* can be used in two- or three-step screening algorithms with subsequent toxin A and B EIA testing, but the sensitivity of such strategies is lower than NAATs. (Strong recommendation, moderate-quality evidence)
4. Repeat testing should be discouraged. (Strong recommendation, moderate-quality evidence)
5. Testing for cure should not be done. (Strong recommendation, moderate-quality evidence)

2013

Prevenzione e Controllo delle Infezioni da *C.difficile*

Guidelines for Diagnosis, Treatment, and Prevention of *Clostridium difficile* Infections

Christina M. Surawicz, MD¹, Lawrence J. Brandt, MD², David G. Binion, MD³, Ashwin N. Ananthakrishnan, MD, MPH⁴, Scott R. Curry, MD⁵, Peter H. Gilligan, PhD⁶, Lynne V. McFarland, PhD^{7,8}, Mark Mellow, MD⁹ and Brian S. Zuckerbraun, MD¹⁰

MICROBIOLOGY AND DIAGNOSIS

The best standard laboratory test for diagnosis has not been clearly established. For the past 30 years, the two primary reference tests are the *C. difficile* cytotoxin neutralization assay (CCNA) and toxigenic culture (TC) (9,10). *C. difficile* culture alone is not sufficient because not all *C. difficile* strains produce toxin (9–14).

Recommendation

1. Only stools from patients with diarrhea should be tested for *C. difficile*. (Strong recommendation, high-quality evidence)

Summary of the evidence. Because *C. difficile* carriage is increased in patients on antimicrobial therapy, only diarrheal stools warrant testing (3,14). Very occasionally, a patient with ileus and complicated disease will have a formed stool (3), in which case the laboratory should be made aware of this special clinical situation. Rectal swabs can be used for PCR and thus may be useful in timely diagnosis of patients with ileus (15).

2013

Prevenzione e Controllo delle Infezioni da *C.difficile*

Guidelines for Diagnosis, Treatment, and Prevention of *Clostridium difficile* Infections

Christina M. Surawicz, MD¹, Lawrence J. Brandt, MD², David G. Binion, MD³, Ashwin N. Ananthakrishnan, MD, MPH⁴, Scott R. Curry, MD⁵, Peter H. Gilligan, PhD⁶, Lynne V. McFarland, PhD^{7,8}, Mark Mellow, MD⁹ and Brian S. Zuckerbraun, MD¹⁰

Recommendations

2. Nucleic acid amplification tests (NAATs) for *C. difficile* toxin genes such as PCR are superior to toxins A+B enzyme immunoassay (EIA) as a standard diagnostic test for CDI. (Strong recommendation, moderate-quality evidence)
3. Glutamate dehydrogenase (GDH) screening tests for *C. difficile* can be used in two- or three-step algorithms with subsequent toxin A+B EIA testing, but the sensitivity of such strategies is lower than NAATs. (Strong recommendation, moderate-quality evidence)

Summary of the evidence. Diagnostic testing for *C. difficile* has rapidly evolved in the past decade (see Table 2). Previously, toxin A+B EIAs were the most widely used diagnostic tests (16–18) because of ease of use and objective interpretation. However, EIA tests have substantially reduced sensitivities compared with reference standards. Moreover, toxin A immunoassays (without toxin B) miss detecting the small number of pathogenic strains that only produce toxin B (10,19). A systematic review of these tests showed that toxin A+B EIA tests had a sensitivity of 75–95%

and a specificity of 83–98% compared with CCNA reference testing (18). Two major advances in the laboratory diagnosis are the use of GDH detection in stools as a means of screening for CDI and the development of NAATs such as PCR to detect toxigenic strains of *C. difficile*.

GDH is an enzyme produced by *C. difficile* in relatively large amounts compared with toxins A and B (20,21). Although GDH is sensitive, it is not as specific for CDI, because this enzyme is produced by both toxigenic and non-toxigenic organisms.

2013

Prevenzione e Controllo delle Infezioni da *C.difficile*

Guidelines for Diagnosis, Treatment, and Prevention of *Clostridium difficile* Infections

Christina M. Surawicz, MD¹, Lawrence J. Brandt, MD², David G. Binion, MD³, Ashwin N. Ananthakrishnan, MD, MPH⁴, Scott R. Curry, MD⁵, Peter H. Gilligan, PhD⁶, Lynne V. McFarland, PhD^{7,8}, Mark Mellow, MD⁹ and Brian S. Zuckerbraun, MD¹⁰

Additionally, antibodies against *C. difficile* GDH may cross react with the same enzyme in other clostridial species (22). Reports and meta-analyses detail sensitivity ranging from 75% to >90% with a negative predictive value of between 95% and 100%, although its positive predictive values have been found to be as low as 50% (18,23). The sensitivity of GDH antigen detection has led to its use as a screening test as part of CDI testing algorithms, although it should be noted that as many as 10% of patients with toxigenic organisms can be missed by this method. In this approach, GDH is the initial test, and GDH-negative specimens are reported as negative with no further testing done. GDH-positive specimens must undergo additional testing for *C. difficile* either by NAAT or by EIA testing followed by NAAT if the EIA results are discordant (24–27).

Evidence suggests that NAATs for toxigenic *C. difficile* are good stand-alone tests for toxigenic *C. difficile*. There are several Food and Drug Administration (FDA)-approved NAATs, including PCR assays and isothermal amplification tests. PCR is an excellent confirmatory test, but data for isothermal amplification testing are not yet sufficient to recommend it.

Clinical practice guidelines have evolved over the past 3 years to suggest the following diagnostic approaches (11,28). (1) GDH screen followed by a confirmatory test in two- or three-step algorithms. (2) NAAT for toxigenic *C. difficile*, but only in patients with documented diarrhea. Their use in any other clinical setting may yield false positive test results. (3) EIA for toxin A + B lacks sensitivity compared with CCNA and TC and should not be used as a stand-alone test. More information on microbiological testing is in the appendix.



Centers for Disease Control and Prevention
CDC 24/7: Saving Lives. Protecting People. Saving Money through Prevention.

Centers for Disease Control and Prevention

MMWR

Weekly / Vol. 61 / No. 9

Morbidity and Mortality Weekly Report

March 9, 2012

Vital Signs: Preventing *Clostridium difficile* Infections

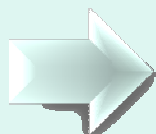
To prevent transmission of *C. difficile*,
early detection and isolation of patients with CDI is essential

NAAT tests can be as much as twice as sensitive as enzyme immunoassays

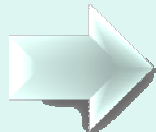
and can detect CDI more accurately

when used in populations with an appropriate pretest probability

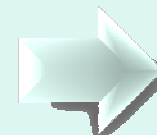
(i.e., patients with more than three unformed stools in a 24-hour period without an identified cause)



NO REPEATED TESTS



BETTER PATIENT MANAGMENT



STANZA SOTTOPOSTA
AD ISOLAMENTO DA CONTATTO
L'ACCESSO E' CONSENTITO SOLO A PERSONE
AUTORIZZATE
E UN VISITATORE PER VOLTA

	<u>PRIMA</u> <u>DI</u> <u>ACCEDERE alla camera</u>
	1. Lavare le mani
	2. Indossare il camice monouso
	3. Indossare i guanti monouso

Parenti e visitatori sono invitati,
PRIMA DI ENTRARE NELLA STANZA, a ritirare e leggere il foglio informativo
 predisposto che dà indicazioni sulle precauzioni da adottare in ospedale e al
 domicilio

STANZA SOTTOPOSTA
AD ISOLAMENTO DA CONTATTO

	<u>PRIMA</u> <u>DI</u> <u>USCIRE dalla camera</u>
	Rimuovere i guanti ed eliminarli nel contenitore apposito.
	Rimuovere il camice ed eliminarlo nel contenitore apposito.
	Lavare le mani con soluzione antisettica





Azienda Ospedaliera
"Guido Salvini"
Garbagnate Milanese

*Presidi Ospedalieri:
Bollate, Garbagnate M.se, Passirana, Rho*

**INFORMAZIONI PER LA PERSONA
ASSISTITA e VISITATORE**

Malattia da CLOSTRIDIUM DIFFICILE

precauzioni ed igiene

Sistema Sanitario



Regione
Lombardia

20024 - Garbagnate Milanese - Viale Forlanini, 121 - Tel.02.994.301
- Cod. Fisc. e Part. IVA 1231450151
posta elettronica certificata:
protocollo.generale@pec.aogarbagnate.lombardia.it



Clostridium difficile (CD) è un batterio che può essere presente nell'intestino, ma che si può trovare come contaminante anche nell'ambiente nella sua forma più difficile da eliminare, la spora, che può sopravvivere per settimane. CD si introduce per via orale, raggiunge l'intestino e produce tossine che causano alterazioni a livello della mucosa.



Clinicamente la malattia si manifesta con un quadro di enterocolite (diarrea acquosa, perdita di appetito, nausea, dolori addominali). Le forme cliniche generalmente sono lievi, tanto che alcuni soggetti non accusano sintomi

particolari. In altri casi, invece, il quadro clinico può diventare più importante. Alcune persone hanno un maggior rischio di infezione: sono, ad esempio, gli anziani, i soggetti con difese immunitarie ridotte, pazienti che hanno effettuato una prolungata terapia antibiotica.

CD è il maggior responsabile di diarrea infettiva negli ospedali e in altre strutture assistenziali, dove si può manifestare anche in forma epidemica. CD si trasmette generalmente attraverso le mani,

che si contaminano per contatto diretto (con le feci) o indiretto (con oggetti o superfici contaminate). E' quindi necessario adottare precauzioni che siano in grado di interrompere la trasmissione.

La diagnosi di infezione si basa sul quadro clinico e su esami di laboratorio, in particolare sulla ricerca delle tossine A e B nelle feci. **La terapia** consiste nella assunzione di antibiotici che

agiscono a livello intestinale. In alcuni casi risulta necessario ripetere la terapia perché si manifesta una recidiva dell'infezione

LE MISURE DI CONTROLLO

La sistematica applicazione delle misure di seguito elencate è in grado di interrompere la catena di trasmissione e di prevenire la comparsa di nuovi casi di infezione da CD. Ulteriori informazioni possono essere richieste al medico curante e all'infermiere che ha in cura il paziente.



Segnalazione sulla porta della camera.

Il cartello che si trova sulla porta ha lo scopo di richiamare tutti quelli che entrano a adottare le misure di prevenzione indicate.

Le mani sono il primo veicolo di diffusione:

per questo è vivamente raccomandato che il paziente, gli operatori e i visitatori si lavino accuratamente le mani con acqua e sapone o con acqua e sapone antisettico. Vi sono alcuni momenti a particolare

rischio infettivo: per il paziente dopo l'uso dei servizi igienici, ma se la persona è allettata o confusa deve essere aiutata a effettuare l'igiene delle mani in più momenti della giornata (anche con frizione alcolica, che non sostituisce completamente il lavaggio con acqua e sapone, ma riduce fortemente la contaminazione).

I visitatori devono lavare le mani prima di contatti con il paziente (per evitare di contaminarlo) e prima di lasciare la stanza (per evitare di trasferire CD all'esterno).

Gli operatori sanitari effettuano l'igiene delle mani prima e dopo l'assistenza e dopo aver manipolato biancheria sporca, oggetti etc, anche se hanno indossato i guanti; infatti i guanti non garantiscono una protezione assoluta.



La camera singola con bagno dedicato

è preferibile e particolarmente raccomandata quando la persona è incontinenta o non collabora attivamente all'osservanza delle misure di controllo. In caso contrario, si applicano le precauzioni da contatto, con particolare attenzione a quanto attiene il potenziale contatto con le feci del paziente. E' perciò consigliato l'uso di una sedia comoda personalizzata o di padella che sia monouso o personalizzata.



Le visite di familiari, badanti, etc:

è preferibile limitare, per quanto possibile, il numero di visitatori. La visita di bambini deve essere rimandata al termine dell'isolamento del paziente affetto da infezione da CD.

In genere anche per i visitatori si raccomanda l'impiego di guanti e camice monouso prima del contatto diretto con il paziente, la biancheria del letto o personale, le feci. Durante la visita è bene non sedersi sul letto, appoggiare oggetti sul comodino, per quanto possibile, nel caso di telefonate al cellulare, non far toccare la superficie del telefono al paziente. Prima di lasciare la stanza, dopo aver tolto guanti e camice, i visitatori si devono lavare le mani, anche se hanno indossato i guanti. Se si verificassero casi di diarrea tra i familiari/ visitatori, è necessario informarne subito il proprio medico curante.



Il trattamento della biancheria a domicilio

Manipolare con attenzione la biancheria, non appoggiarla a terra o sulla

sedia, ma metterla in un sacchetto e portarla direttamente al lavaggio. Per il lavaggio a domicilio temperature uguali o superiori a 60° e l'uso di detersivo sono considerati adeguati; in caso di contaminazione con feci, aggiungere nel prelavaggio 200 ml di candeggina (circa due bicchieri da tavola) o altro prodotto a base di cloro. A livello di strutture sanitarie il trattamento della biancheria segue altre modalità, utili a non diffondere CD tra le altre persone ricoverate.



La pulizia dell'ambiente

E' importante per impedire la trasmissione. Il locale al quale si deve prestare maggior attenzione è il servizio igienico: pulire non solo il pavimento,

ma i sanitari (compreso l'asse del WC e il bidet), i rubinetti, gli interruttori, le maniglie della porta. Dopo aver pulito, disinfettare con un prodotto a base di cloro: candeggina (20 ml in un litro di acqua) o altri prodotti a base di cloro reperibili normalmente presso la grande distribuzione (es. Amuchina, Milton), utilizzando le concentrazioni d'uso consigliate dal produttore. Anche a livello di strutture sanitarie per la disinfezione ambientale viene utilizzato un prodotto a base di cloro, applicato secondo le modalità indicate dal protocollo di sanificazione, che sono indirizzate ad impedire la diffusione CD nell'ambiente.



Azienda Ospedaliera
"Guido Salvini"
Garbagnate Milanese

PRQ.25.1 - All. 3 - Rev.0

Come lavarsi le mani?

Lavare le mani quando sono sporche, oppure utilizzare le salviettine monouso

Durata della procedura: 40-60 secondi

0 Bagnare le mani con acqua	1 Applicare sapone a sufficienza sino a ricoprire tutta la superficie delle mani	2 Strofinare le mani da un palmo all'altro
3 Palmo destro sul dorso sinistro incrociando le dita e viceversa	4 Palmo a palmo con le dita intrecciate	5 Di nuovo le dita, opponendo i palmi con dita racchiuse, una mano con l'altra
6 Strofinare attraverso rotazione del pollice sinistro sul palmo destro e viceversa	7 Strofinare attraverso rotazione, all'indietro e in avanti con le dita della mano destra sul palmo sinistro e viceversa	8 Risciacquare le mani con acqua
9 Asciugare le mani con una salviettina monouso	10 Usare la salviettina per chiudere il rubinetto	11 Le mani sono ora pulite

Fonte: World Health Organization

CLOSTRIDIUM DIFFICILE FARM

DON'T WORRY LADS, IT'S JUST ANOTHER
HEALTHCARE COMMISSION REPORT...
THEY'LL BE TALKING FOR AGES!

