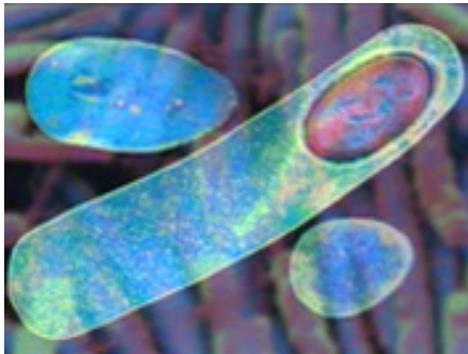


# Diagnostik von *Clostridium difficile*



Matthias Marschal

29.03.2014

## Clostridium difficile - Diagnostik

- Stationäre Patienten > 48 h Krankenhausaufenthalt
  - häufigster Durchfallerreger
  - Empfehlung: wenn kein Ausbruch  $\Rightarrow$  nur C.difficile-Diagnostik
- Ambulante Patienten
  - auch dran denken
  - antibiotische Vortherapie kann gering sein oder ganz fehlen
  - Herausforderung: Beurteilung der Ätiologie (gesunde Träger, kleine Kinder)
- Wiederholung der Diagnostik
  - im positiven Fall nicht indiziert (kein Entisolierungskriterium)

## Verfügbare Tests – das diagnostische Dilemma

	Sensitivität	Spezifität	Zeitbedarf	Hands-on-Time	Kosten Sachmittel
Toxinogene Kultur	Goldstandard		2-11 Tage	40 Minuten	5 €
Cytotoxizitätsassay	95-100%	95-100%	2-4 Tage	40 Minuten	5 €
Toxin A/B-Test	50-70%	95-100%	0,5-3 Stunden	10-20 Minuten	3-6 €
GDH-Test	90-95%	70-95%	0,5-3 Stunden	10-20 Minuten	3-6 €
Toxin-PCR	95-100%	95-100%	1-2 Stunden	10-20 Minuten	25 €

Wapetus!!!  
zuzulassen!!!

## C.difficile Diagnostik – ein neues Tool

BMJ

BMJ 2012;345:e7396 doi: 10.1136/bmj.e7396 (Published 13 December 2012)

Page 1 of 8

### RESEARCH

CHRISTMAS 2012: RESEARCH

#### **Using a dog's superior olfactory sensitivity to identify *Clostridium difficile* in stools and patients: proof of principle study**

 OPEN ACCESS

Marije K Bomers *consultant*<sup>1</sup>, Michiel A van Agtmael *consultant*<sup>1</sup>, Hotsche Luik *canine trainer and psychologist*<sup>2</sup>, Merk C van Veen *resident*<sup>3</sup>, Christina M J E Vandenbroucke-Grauls *professor*<sup>4</sup>, Yvo M Smulders *professor*<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Internal Medicine, VU University Medical Centre, PO Box 7057, 1007 MB Amsterdam, Netherlands; <sup>2</sup>Scent Detection Academy and Research, Animal Behaviour and Cognition, HL&HONDEN, Edam, Netherlands; <sup>3</sup>Department of Internal Medicine, St Lucas Andreas Hospital, Amsterdam, Netherlands; <sup>4</sup>Department of Medical Microbiology and Infection Control, VU University Medical Centre

## C.difficile Diagnostik – ein neues Tool

### Abstract

**Objective** To investigate whether a dog's superior olfactory sensitivity can be used to detect *Clostridium difficile* in stool samples and hospital patients.

**Design** Proof of principle study, using a case-control design.

**Setting** Two large Dutch teaching hospitals.

**Participants** A 2 year old beagle trained to identify the smell of *C difficile* and tested on 300 patients (30 with *C difficile* infection and 270 controls).

**Intervention** The dog was guided along the wards by its trainer, who was blinded to the participants' infection status. Each detection round concerned 10 patients (one case and nine controls). The dog was trained to sit or lie down when *C difficile* was detected.

**Main outcome measures** Sensitivity and specificity for detection of *C difficile* in stool samples and in patients.

**Results** The dog's sensitivity and specificity for identifying *C difficile* in stool samples were both 100% (95% confidence interval 91% to 100%). During the detection rounds, the dog correctly identified 25 of the 30 cases (sensitivity 83%, 65% to 94%) and 265 of the 270 controls (specificity 98%, 95% to 99%).

**Conclusion** A trained dog was able to detect *C difficile* with high estimated sensitivity and specificity, both in stool samples and in hospital patients infected with *C difficile*.

### Introduction

*Clostridium difficile* infection is common, particularly in people in healthcare facilities who have received antimicrobials. *C difficile* causes toxin mediated intestinal disease, with symptoms ranging from mild diarrhoea to severe pseudomembranous colitis and toxic megacolon. The bacterium can be transmitted through

Correspondence to: M K Bomers [m.bomers@vumc.nl](mailto:m.bomers@vumc.nl)

Video on [bmj.com](http://bmj.com) (see also <http://bmj.com/video>)



Cliff has been trained to sniff out the bacteria *clostridium difficile*

Cliff

## C.difficile Diagnostik – ein neues Tool

Diagnostische Akkuratheit von Cliff in der Detektion von C.difficile in *Stuhlproben*

	right/ inconclusive/ wrong response of dog	sensitivity % (95% confidence interval)	specificity % (95% confidence interval)
50 samples <b>positive</b> for C.diff	50/0/0	100 (CI 91-100)	
50 samples <b>negative</b> for C.diff	47/3/0		
-> primary analysis	50//0		100 (CI 91-100)
-> secondary analysis	47//3		94 (CI 83-98)

primary analysis: inconclusive responses of the dog = considered negative results

secondary analysis: inconclusive responses of the dog = considered positive results

## C.difficile Diagnostik – ein neues Tool

Diagnostische Akkuratheit von Cliff zur Detektion von C.difficile in *Patienten*

	positive/negative response of dog	sensitivity % (95% confidence interval)	specificity % (95% confidence interval)
30 patients <b>positive</b> for C.diff	25/3/2		
-> primary analysis	25//5	83 (CI 65-94)	
-> secondary analysis	28//2	93 (CI 76-99)	
270 patients <b>negative</b> for C.diff	261/4/5		
-> primary analysis	265//5		98 (CI 95-99)
-> secondary analysis	261//9		97 (CI 94-98)

primary analysis: inconclusive responses of the dog = considered negative results

secondary analysis: inconclusive responses of the dog = considered positive results

## Verfügbare Tests – das diagnostische Dilemma

	Sensitivität	Spezifität	Zeitbedarf	Hands-on-Time	Kosten Sachmittel
Toxinogene Kultur	Goldstandard		2-11 Tage	40 Minuten	5 €
Cytotoxizitätsassay	95-100%	95-100%	2-4 Tage	40 Minuten	5 €
Toxin A/B-Test	50-70%	95-100%	0,5-3 Stunden	10-20 Minuten	3-6 €
GDH-Test	90-95%	70-95%	0,5-3 Stunden	10-20 Minuten	3-6 €
Toxin-PCR	95-100%	95-100%	1-2 Stunden	10-20 Minuten	25 €
Trainierter Hund	92,8%	96,7%	Wenige Minuten	???	???

## Clostridium difficile - Stufendiagnostik

1. Sensitiver und kostengünstiger Suchtest  
GDH-Test
2. Spezifischer Bestätigungstest  
Toxin-Test
3. Aufwändige Diagnostik bei Diskrepanzen  
PCR auf das Toxin-Gen

JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Feb. 2010, p. 606–608  
0095-1137/10/\$12.00 doi:10.1128/JCM.01579-09  
Copyright © 2010, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 48, No. 2

## Evaluation of Diagnostic Tests for *Clostridium difficile* Infection<sup>▽</sup>

Jonathan Swindells, Nigel Brenwald, Nathan Reading, and Beryl Oppenheim\*

*Department of Medical Microbiology, City Hospital, Birmingham, United Kingdom*

Received 16 August 2009/Returned for modification 10 November 2009/Accepted 11 December 2009

We evaluated toxigenic *Clostridium difficile* detection by a lateral flow assay for antigen and toxin, an enzyme immunoassay, and two commercial PCR methods. Compared to the cell cytotoxicity neutralization assay and toxigenic culture, both toxin detection methods lacked sensitivity. PCR following combined antigen and toxin detection provided the most useful diagnostic information.



Berufsverband der Ärzte für  
Mikrobiologie, Virologie und  
Infektionsepidemiologie e.V.

DIAGNOSTIK

## Labordiagnose der *Clostridium-difficile*-Colitis: Klinische, epidemiologische und ökonomische Konsequenzen der Umstellung auf eine PCR-basierte Diagnostik

M. Trautmann<sup>1</sup>, W. Reiter<sup>2</sup>, Th. Regnath<sup>3</sup>, Th. Weinke<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Institut für Krankenhaushygiene, Klinikum Stuttgart

<sup>2</sup> Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin, Klinikum Stuttgart

<sup>3</sup> Labor Prof. Enders & Kollegen MVZ, Stuttgart

<sup>4</sup> Klinik für Gastroenterologie und Infektiologie, Klinikum Ernst von Bergmann, Potsdam

Heft 1 / März 2014 / 24. Jahrgang

DER  
MIKROBIOLOGE

Mitteilung des Berufsverbandes der Ärzte für Mikrobiologie, Virologie und Infektionsepidemiologie e. V.

## Ergebnisse verschiedener Tests

TABLE 2. Performance of *C. DIFF* Quik Chek Complete, VIDAS, Xpert *C. difficile* PCR, and Gene Ohm PCR compared to those of stool CCNA and toxigenic culture<sup>a</sup>

Comparator test	Parameter	Performance (95% CI) by:				
		<i>C. DIFF</i> Quik Chek Complete for:		VIDAS	Xpert <i>C. difficile</i> PCR	Gene Ohm PCR
		GDH	CDT			
Stool CCNA	% sensitivity	100 (79.4–100)	73.3 (47.6–89.0)	53.3 (29.9–75.3)	100 (79.4–100)	100 (79.4–100)
	% specificity	94.8 (89.6–97.4)	100 (97.3–100)	100 (97.3–100)	97.0 (92.6–98.8)	97.8 (93.7–99.2)
	% PPV	68.2 (47.1–83.6)	100 (73.5–100)	100 (66.4–100)	78.9 (56.3–91.3)	83.3 (60.4–93.9)
	% NPV	100 (97.2–100)	97.1 (92.8–98.8)	95.1 (90.2–97.6)	100 (97.2–100)	100 (97.3–100)
Toxigenic culture	% sensitivity	100 (82.4–100)	61.1 (38.4–79.7)	44.4 (24.4–66.5)	100 (82.4–100)	94.4 (74.0–98.7)
	% specificity	97.0 (92.5–98.8)	100 (97.3–100)	100 (97.3–100)	99.2 (95.9–99.8)	99.2 (95.9–99.8)
	% PPV	81.8 (61.2–92.5)	100 (73.5–100)	100 (66.4–100)	94.7 (75.1–98.8)	94.4 (74.0–98.7)
	% NPV	100 (97.2–100)	95.0 (90.0–97.5)	93.0 (87.5–96.1)	100 (97.2–100)	99.2 (95.9–99.8)

<sup>a</sup> CI, confidence interval; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value.

## Vorgeschlagener Algorithmus

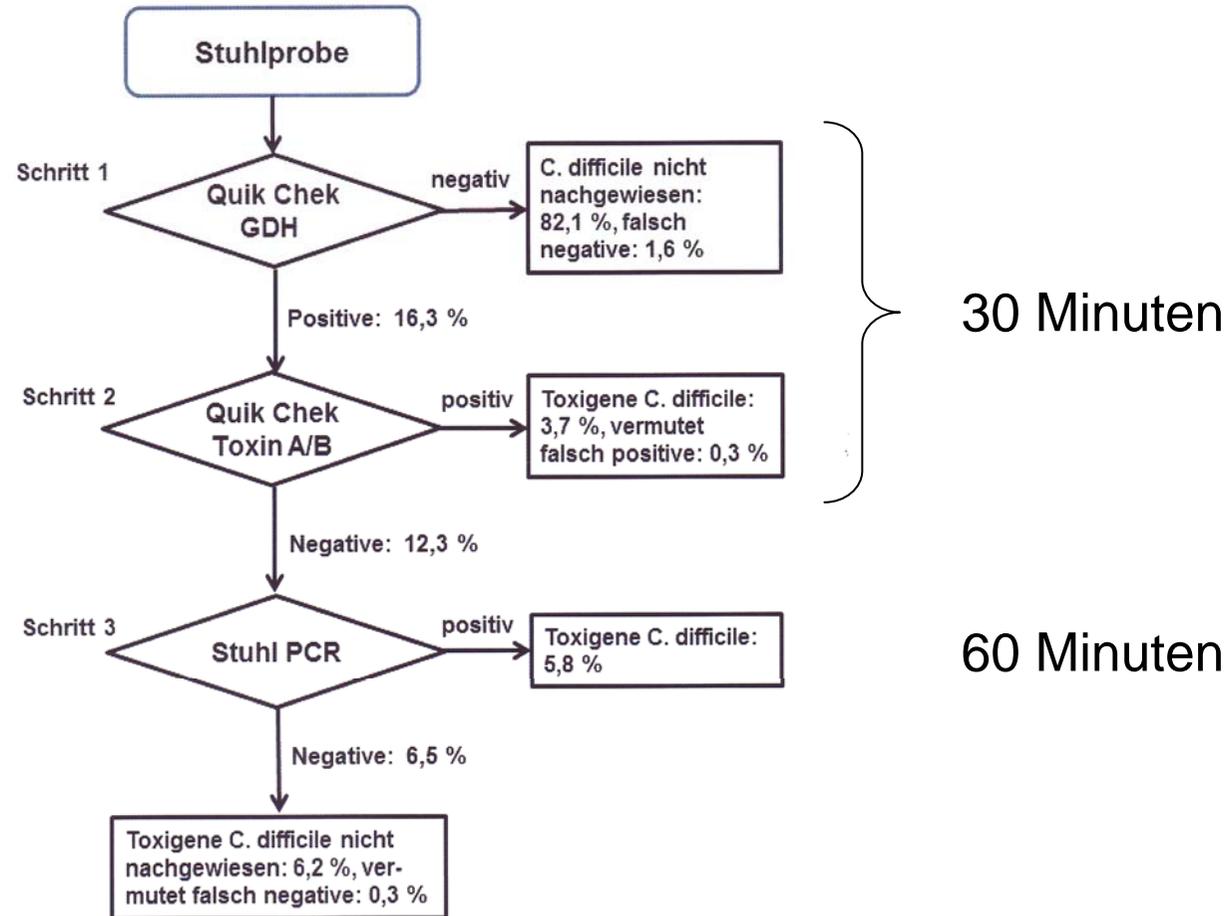


Abb. 2. Dreischrittiges Vorgehen bei der *C. difficile*-Diagnostik (nach [19])

## Situation am UKT

- Bis 2010: Lediglich Toxin-ELISA
- Ab 2011: Modifiziertes Stufenvorgehen
  - a) Schnelltest (GDH und Toxin)
  - b) Toxin-PCR
  - c) bei Erstnachweis Kultur
    - in etwa 75% der Fälle positiv (*C.difficile*)
    - epidemiologische Untersuchungen möglich
    - bei primären Therapieversagern  
Resistenztestung möglich

## Auswirkungen bei Umsetzung am UKT - Prognose -

- Etwa gleich sensitiver Toxintest wie bisher
  - weiterhin ca. 150 positive Toxin-Ergebnisse / 3.600 Untersuchungen / Jahr
- Zeitgewinn
  - 30 Minuten (neu) versus 3 Stunden (bisher)
  - Vorteil gerade für das Wochenende
- Einzeltests möglich
- Neuer GDH-Test
  - zusätzlich 75 positive GDH-Ergebnisse / 3.600 Untersuchungen / Jahr
  - eine Spezifität des Tests von 90% führt zu 67 zusätzlichen *C.difficile* Fällen / Jahr
  - Verbesserung der Nachweisrate um 44,7%

## Evaluation (27.10.-22.12.2010)

Routinediagnostik Toxin-ELISA

Bei positivem ELISA Schnelltest und ggf. PCR

Darüber hinaus 5 Proben werktäglich parallel bearbeitet

Insgesamt 133 Paralleluntersuchungen

Auswertung

## Auswertung

### Welche Patienten sind positiv ?

Jeder Patient mit positiver Kultur (n=17)

Patienten, die in Toxin-ELISA, Schnelltest und PCR positiv waren (zusätzlich n=5)

Patienten, die im zeitlichen Umfeld kulturell positiv waren (zusätzlich n=5)

Patienten mit positivem Schnelltest und PCR und positivem Toxin-ELISA im zeitlichen Umfeld (zusätzlich n=2)

Insgesamt 29 Patienten positiv

## Auswertung

### Welche Patienten sind negativ ?

Patienten, die in allen Untersuchungen negativ waren (n=86)

Patienten, die nur einmal im Toxin-ELISA positiv  
ohne Kultur, Schnelltest und PCR waren (zusätzlich n=4)

Patienten, die nur einmal in Schnelltest und PCR positiv  
ohne Kultur und Toxin-ELISA waren (zusätzlich n=2)

Insgesamt 92 Patienten negativ

# Auswertung

## Welche Patienten bleiben übrig ?

Patienten mit mehrfach positivem Toxin-ELISA  
ohne positivem Schnelltest, PCR und Kultur (n=12)

Sonstige Patienten (zusätzlich n=2)

Insgesamt 14 Patienten unklar

Unklare Patienten wurden nicht in die Auswertung aufgenommen.

## Auswertung Herkömmlicher Toxin-ELISA

	Positive Patienten	Negative Patienten	gesamt
ELISA positiv	17	4	21
ELISA negativ	12	88	100
gesamt	29	92	121

Aus den Daten ergibt sich eine  
Sensitivität von  $17/29 = 58,6\%$  bei einer  
Spezifität von  $88/92 = 95,7\%$

## Auswertung Schnelltest (ST) mit PCR

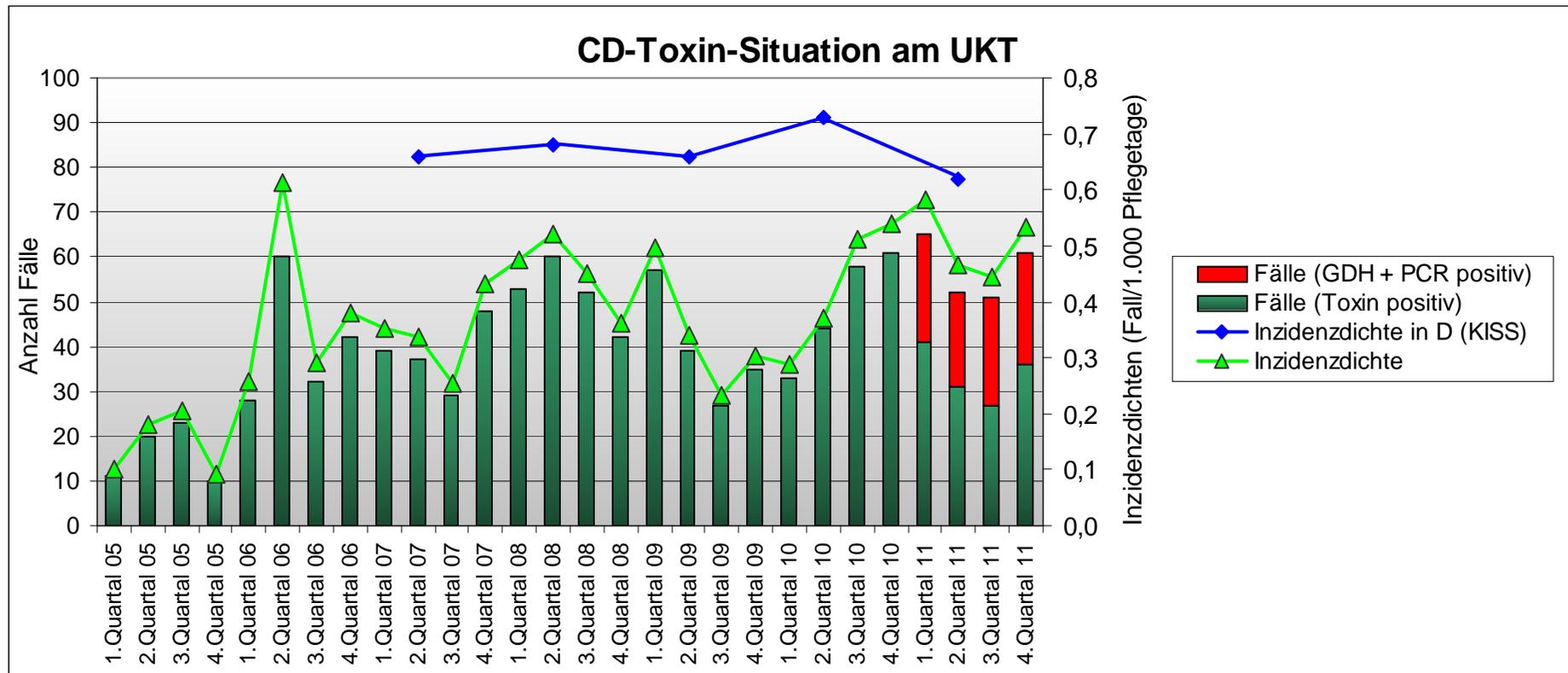
	Positive Patienten	Negative Patienten	gesamt
Schnelltest positiv	17	1	18
GDH pos TOX neg PCR positiv	11	1	12
GDH pos TOX neg PCR negativ	0	3	3
Schnelltest negativ	1	87	88
gesamt	29	92	121

Aus den Daten ergibt sich eine  
Sensitivität von  $28/29 = 96,6\%$  bei einer  
Spezifität von  $90/92 = 97,8\%$

## Fazit Diagnostik *Clostridium difficile*

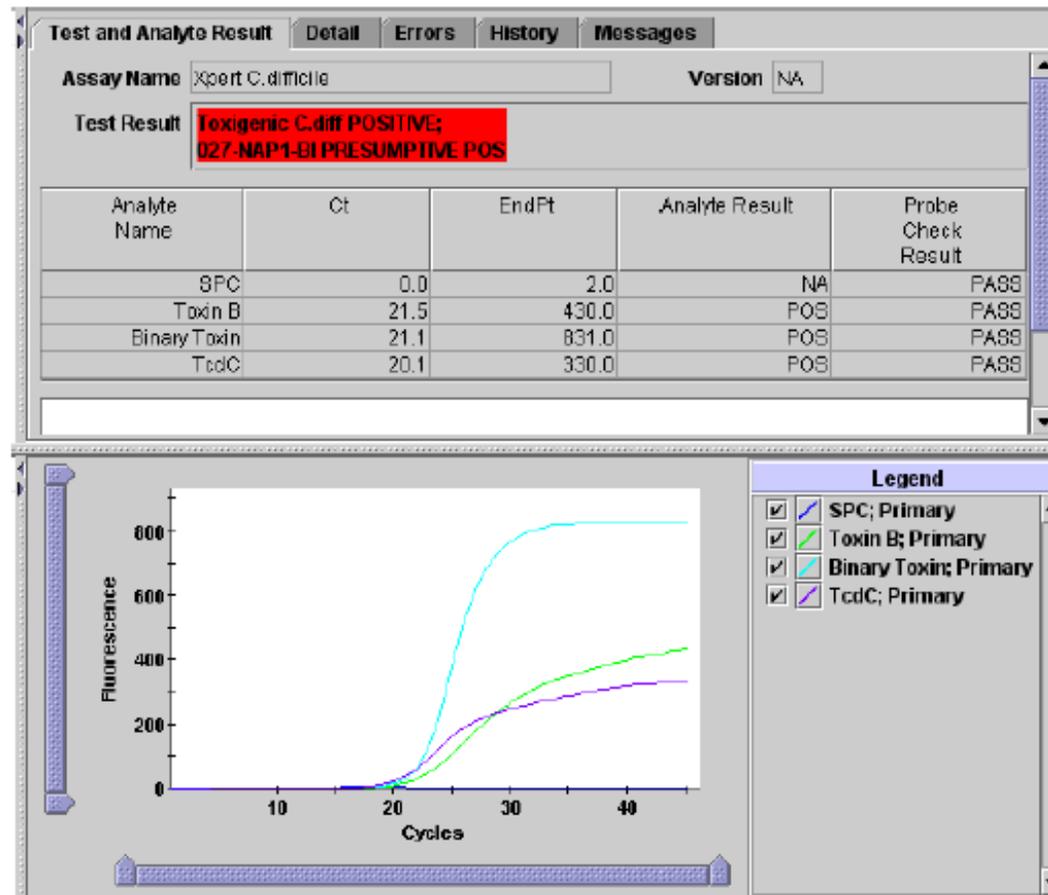
- Die neue Diagnostik (ST und PCR) ist wesentlich sensitiver als der ELISA (Sensitivität bei uns 96,6% versus 58,6%)
- Das bedeutet eine Steigerung der C.difficile-Fälle um 64% ! (statt 150-200 Fälle jährlich dann knapp 250-330 Fälle)
- Auch die Spezifität des neuen Systems ist besser (97,8% versus 95,7%)
- Das bedeutet einer Verminderung der falsch positiven Fälle um 50% ! (statt ca. 140 Fälle jährlich dann nur noch 70 Fälle)
- Die Umstellung war notwendig.
- Wir diagnostizieren heute die „echteren“ Fälle.

## Ergebnisse *Clostridium difficile*-Diagnostik



Durch neue Diagnostik Annäherung der UKT-Zahlen an die KISS-Zahlen

## PCR-Schmankerl: Nachweis Ribotyp 027



GeneXpert Ergebnis: *Clostridium difficile* positiv, 027 presumptive positive

## Direkt-PCR: „027 presumptive positive“

Labor-Nr.	Initialen	Alter	Station	Symptomatik	ELISA	Kultur	Referenz
ST5080 ST5087	J.W.	66 J.	NE1SINT	schwer	+	+	bestätigt n.d.
ST5207 ST5390 ST5481	H.N.	75 J.	CH1S12	unklar Stühle flüssig	+	+	bestätigt n.d. n.d.
ST5233	M.C.	67 J.	IM4S46	unklar Stuhl schleimig	-	-	n.d.
ST5736	E.K.	76 J.	IM2S24	unklar Stuhl flüssig	-	+	n.d.
ST5669 ST5752	A.F.	82 J.	NE1SINT NE1S13	unklar Stuhl schleimig	+	+	bestätigt n.d.
ST178 ST270	H.-P.H.	51 J.	CH1S14	unklar	n.d.	+	Ribotyp 066 n.d.
ST291	H.D.	76 J.	IM3S34	unklar	n.d.	+	bestätigt
ST295	J.P.	65 J.	IM8SINT	unklar	n.d.	+	bestätigt
ST443	M.K.	64 J.	IM4S45	unklar	n.d.	+	bestätigt
ST491	A.M.	80 J.	IM1S12	kein schwerer Verlauf	n.d.	+	n.d.
ST498	E.F.	75 J.	TH2S23	schwer	n.d.	+	bestätigt
ST1057	K.-A.M.	89 J.	AN8SINT3	schwer	n.d.	+	bestätigt
ST1138	S.B.	78 J.	IM8SINT	wässrige Diarrhoe	n.d.	+	bestätigt
ST1153	K.K.	84 J.	IM8SINT	wässrige Diarrhoe	n.d.	+	bestätigt

## Nachweis Ribotyp 027

- In 3 Monaten 14 Patienten mit „027 presumptive positive“ bei insgesamt 64 PCR-Untersuchungen (21,9%) !
- Referenzlabor:
  - 10 Isolate bestätigt
  - 1 Isolat nicht bestätigt (Ribotyp 066)
  - In einer Probe keine C.difficile-Kultivierung möglich
  - 2 Proben wurden nicht verschickt
- Technisch scheint der GeneXpert recht valide zu arbeiten (Spezifität: 10/11 = 90,9%)

## Bedeutung Ribotyp 027

- Schwererer Verlauf (OR 1,99)<sup>1</sup>
- Höhere Frühmortalität (innerhalb von 72 Stunden: 11% versus 3%)<sup>2</sup>
- Höhere Gesamtmortalität (23% versus 11%)<sup>2</sup>
- Höheres Therapieversagen mit Metronidazol (29% versus 3%)<sup>3</sup>
- Häufiger Kreatinin-Anstieg (20% versus 3%)<sup>3</sup>
- Häufiger rekurrende Infektionen (OR 1,44)<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Goorhuis et al., Clin.Infect.Dis. 2007;**45**:695-703

<sup>2</sup> Sundram et al., J.Hosp.Infect. 2009;**72**:111-118

<sup>3</sup> Freeman et al., Clin.Microbiol.Rev. 2010;**23**:529-549

## Bedeutung Ribotyp 027

Andererseits...

- Schwere Verläufe sind mit 027 häufiger, aber nicht zwingend.
- Die Klinik ist letztlich entscheidend.
- Andere Ribotypen (z.B.078) sind auch stärker pathogen.<sup>1</sup>
- In einem Ausbruch in Hessen waren auch die Ribotypen 001 und 017 mit einem schweren Verlauf assoziiert.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Goorhuis et al., Clin.Infect.Dis. 2008;**47**:162-170

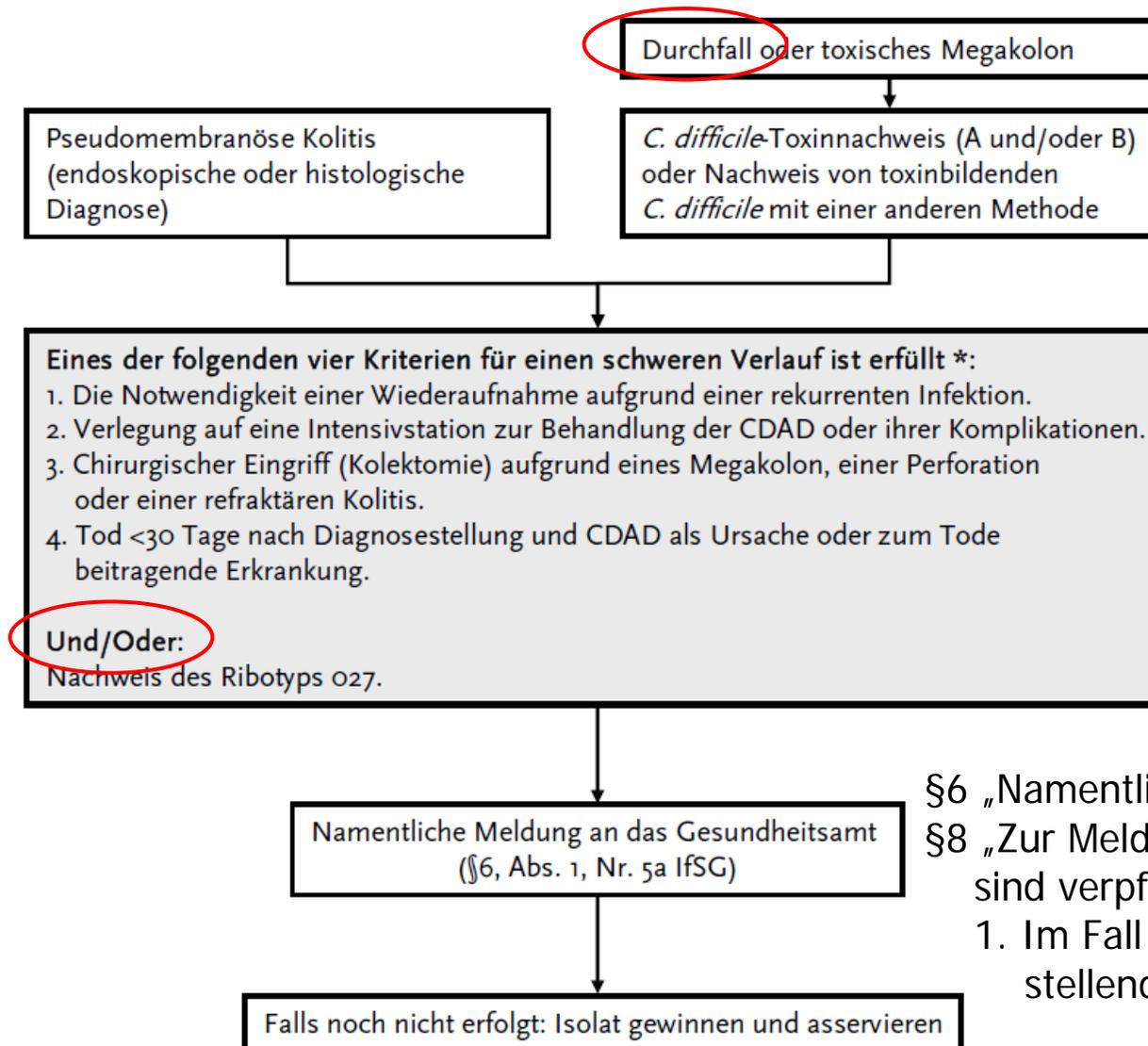
<sup>2</sup> Arvand et al., Euro Surveill. 2009;14(45):pii=19403

## Bedeutung Ribotyp 027

Was würde ein Nachweis bringen ?

- Eventuell würde man schneller eine Kombinationstherapie machen
- Die gewonnenen Daten helfen zur weiteren Beurteilung von 027
- Die bisherigen Daten zeigen bei uns eine relativ hohe Prävalenz.
- Der Nachweis von 027 ist meldepflichtig.

## Bedeutung Ribotyp 027



§6 „Namentlich ist zu melden...“  
§8 „Zur Meldung oder Mitteilung  
sind verpflichtet:  
1. Im Fall des §6 der fest-  
stellende Arzt...“

## Zusammenfassung C.difficile-Diagnostik

- Einzelne diagnostische Tests sind suboptimal
- Kultur oder Zytotoxizitätsassay:
  - zu langsam (mindestens 2 Tage)
  - zu aufwändig
- Toxintests:
  - zu insensitiv
- GDH-Tests:
  - zu unspezifisch
- PCR:
  - zu teuer oder zu aufwändig
- Praktikables Vorgehen: Stufendiagnostik
  - GDH-Test als Suchtest
  - Toxin-Test als Bestätigungstest
  - In Zweifelsfällen (GDH pos, Toxin neg): PCR