

Veranderingen in 2008/'09 van de epidemiologie van *Clostridium difficile*-infecties in Nederland.

Marjolein P.M. Hensgens, Abraham Goorhuis, Daan W. Notermans, Birgit H.B. van Benthem, Ed J. Kuijper

- DOEL** De epidemiologische kenmerken beschrijven van infectie door *Clostridium difficile* (CDI) in Nederland.
- OPZET** Descriptief.
- METHODE** Na de eerste uitbraak in 2005 van CDI door het hypervirulente PCR-ribotype 027, werd er een nationaal referentielaboratorium ingesteld in het Leids Universitair Medisch Centrum voor typering en karakterisering van *Clostridium difficile*. Data werden verkregen van dit referentielaboratorium en van een continue surveillance die in 14 ziekenhuizen plaatsvond. Het onderzoek liep van januari 2008-juni 2009.
- RESULTATEN** In 2008 was de incidentie van CDI 18 per 10.000 opnames (uitersten: 14-23) in de 14 ziekenhuizen die participeerden in de continue surveillance. In de onderzoeksperiode werden er vanuit 63 centra 1867 meldingen van CDI gedaan. Het aantal CDI uitbraken door het hypervirulente type 027 was verminderd in de periode januari 2008-juni 2009, vergeleken met de jaren daarvóór: type 027 was de oorzaak van een uitbraak in 4 ziekenhuizen in 2008-2009, terwijl er in 14 ziekenhuizen een uitbraak door dit type was in 2005-2007. Hoewel er geen systematische surveillance van CDI in verpleeghuizen plaatsvond, werden in de periode van 2005-2009 in 24 Nederlandse verpleeghuizen uitbraken van *C. difficile* gerapporteerd, waarbij in 12 type 027 werd geïsoleerd. Er was een toename van opgemerkte CDI bij patiënten met diarree buiten de zorginstellingen, die samen leek te gaan met de opkomst van andere typen. Vooral type 078 nam sinds eind 2006 toe; dit is nu het derde meest voorkomende type in Nederland. Dit type werd sinds 2007 ook herkend als een belangrijke verwekker van CDI bij dieren, met name varkens. Inmiddels zijn er ook berichten verschenen dat ruim een derde van de patiënten met CDI buiten de zorginstelling, geen bekende risicofactor voor CDI heeft, zoals een onderliggende ziekte, recente ziekenhuisopname of antibioticagebruik.
- CONCLUSIE** CDI komt ook buiten zorginstellingen voor. Vooral bij oudere patiënten met diarree zonder bekende verwekker, dient de huisarts *C. difficile* in de differentiaaldiagnose op te nemen.

Leids Universitair Medisch Centrum,
Centrum voor Infectieziekten, Leiden.
Afd. Medische Microbiologie:
drs. M. Hensgens, arts-onderzoeker;
dr. E.J. Kuijper, arts-microbioloog;
drs. A. Goorhuis, internist in opleiding.
Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu
(RIVM), Bilthoven.
Centrum Infectieziektebestrijding:
dr. Ir. B.H.B. van Benthem, epidemioloog;
dr. D.W. Notermans, arts-microbioloog.
Contactpersoon: dr. E.J. Kuijper
(e.j.kuijper@lumc.nl).

Na de eerste uitbraak in 2005 van infectie *Clostridium difficile* (CDI) door het hypervirulente PCR-ribotype 027, werd er een nationaal referentielaboratorium ingesteld en startte in 14 ziekenhuizen een continue surveillance. CDI's komen vooral voor bij oudere mensen met comorbiditeiten, tijdens of vlak na het gebruik van antibiotica, met name cefalosporinen, fluoroquinolonen of clindamycine. De bacterie wordt beschouwd als een ziekenhuisbacterie, maar wordt steeds vaker ook buiten zorginstellingen aangetroffen en bij patiënten die niet tot een bekende risicogroep behoren. *C. difficile* vormt sporen die resistent zijn tegen uitdroging en vele desinfectantia en die lang in de omgeving kunnen persisteren. Besmetting met *C. difficile* vindt plaats door overdracht van sporen vanuit de omgeving of door patiëntencontact, waarna de bacteriën in het maag-darmkanaal kunnen uitgroeien en toxinen kunnen gaan produceren die diarree veroorzaken. De infectie kan variëren van een milde, zelflimiterende diarree tot een ernstige pseudomembraneuze colitis met complicaties zoals een perforatie of het ontstaan van een toxisch megacolon.¹ Eerder rapporteerden wij in dit tijdschrift over de epide-

miologische situatie van *C. difficile* tot en met 2007, en beschreven we dat het hypervirulente PCR-ribotype 027 aan het eind van 2007 nog slechts in 1% van het aantal ingestuurde *C. difficile*-isolaten werd aangetoond. Een nieuw PCR-ribotype, type 078, was toegenomen van 3% in 2005 tot 13% in de tweede helft van 2007.^{6,10} Nu beschrijven wij de periode van januari 2008 tot en met juni 2009.

ACHTERGROND

Dynamiek van *C. difficile*-infecties Door middel van PCR-ribotypering is *C. difficile* onder te verdelen in meer dan 200 verschillende typen. De verschillende typen die in ziekenhuizen en andere zorginstellingen worden gevonden, wisselen regelmatig in de loop van de tijd en worden vermoedelijk geïntroduceerd door patiënten en asymptomatische dragers die sporen van *C. difficile* in de ziekenhuisomgeving verspreiden. Meer dan de helft van alle typen is slechts kort aanwezig en niet met uitbraken geassocieerd. De typen die wel regelmatig bij uitbraken worden gevonden, verdwijnen hierna geheel, of ze blijven endemisch aanwezig.² De typen die in verpleeghuizen worden gevonden, komen overeen met de typen die in ziekenhuizen worden aangetroffen, terwijl er bij CDI's buiten zorginstellingen, behoudens enige overlap, andere typen worden gevonden.³

PCR-ribotype 027, oorzaak van ernstige beelden Het bekendste PCR-ribotype is type 027, dat in 2004 en 2005 voor grote uitbraken zorgde in zorginstellingen in Canada, het Verenigd Koninkrijk en Amerika. Hiervóór werd dit type slechts sporadisch aangetroffen. Infecties met type 027 trokken de aandacht omdat een specifiek PCR-ribotype zich nog niet eerder in zo'n korte tijd over verschillende continenten verspreidde en omdat de uitbraken met dit type zorgden voor een sterk verhoogde morbiditeit en mortaliteit: 14-25% van de CDI-patiënten door type 027 overleed binnen 30 dagen.^{4,5} Ook veroorzaakt type 027 vaker recidieven (30%) en een gecompliceerd beloop, waarvoor een IC-opname en zelfs colectomie nodig is (18%).⁶⁻⁸ In 2005 zijn infecties met type 027 ook in Nederland vastgesteld.⁹

Maatregelen op advies van het uitbraakteam ('outbreak management team') voor *C. difficile* en het Centrum Infectieziektebestrijding (CIb), zoals een landelijk protocol met nadruk op snelle identificatie en isolatie van patiënten, leidden tot een efficiënte aanpak en daling van het aantal uitbraken door type 027 in Nederland.¹⁰⁻¹² Tot nu toe is in Nederland type 027 alleen in zorginstellingen aangetroffen en niet bij patiënten die de infectie buiten de zorginstelling opliepen.

DATA EN METHODE

Incidentie en typen in Nederlandse zorginstellingen

Wij gebruikten voor ons onderzoek de gegevens van het nationaal referentielaboratorium, dat in 2005 in samenwerking met het CIb werd opgericht in het Leids Universitair Medisch Centrum (LUMC) voor typering en karakterisering van *C. difficile*. Bij uitbraken of ernstig verlopende CDI's kunnen fecesmonsters of *C. difficile*-isolaten kosteloos naar dit laboratorium gestuurd worden. Daarnaast gebruikten wij de gegevens van een continue surveillance-studie waarin gedurende 3 jaren systematisch de incidentie en klinische en microbiologische informatie werd verzameld van alle CDI-patiënten opgenomen in 14 ziekenhuizen.

RESULTATEN

Incidentie De incidentie van CDI in 2008 was 18 per 10.000 opnames (uitersten: 14-23) in de 14 ziekenhuizen waar de continue surveillance plaatsvond. Deze incidentie was ongeveer gelijk aan de incidentie in Nederland in 2005.⁹ In de periode januari 2008-juni 2009 werden er vanuit 63 centra 1867 gevallen van CDI gemeld.

PCR-ribotypering In totaal werden er 1304 monsters ingestuurd, waarvan 1171 stammen (89%) beschikbaar waren voor PCR-ribotypering. De meest voorkomende typen waren type 001 (n = 187; 16,0% van alle isolaten), type 014 (n = 136; 11,6%) en type 078 (n = 131; 11,2%). Bij 45% van isolaten werden 75 andere, minder frequent voorkomende typen aangetoond, zoals bijvoorbeeld 002, 015, 012 en 087. Bij 10% werden er een onbekende typen gevonden waarvan nog geen referentiestam in de database aanwezig is.

PCR-ribotype 027 was in 3,9% (n = 46) van de isolaten aanwezig en werd gevonden in 11 zorginstellingen. In één instelling werd een 'uitbraak' vastgesteld (dat wil zeggen: ≥ 2 patiënten met een CDI door hetzelfde type binnen 1 week op 1 afdeling) en in 3 instellingen was er een 'mogelijke uitbraak' (dat wil zeggen: ≥ 2 patiënten met CDI door hetzelfde type binnen 1 week in 1 ziekenhuis). In Midden-Nederland vonden in één ziekenhuis tegelijkertijd uitbraken met zowel 027 als 001 plaats. Ruim een derde van alle type 027- en de helft van de type 001-isolaten waren uit dit ziekenhuis afkomstig. Bij exclusie van dit ziekenhuis uit de analyse waren typen 014 en 078 de meest voorkomende typen in Nederland, met beide 13%.

PCR-ribotype 078 werd in 30 zorginstellingen aangetroffen; in 1 ziekenhuis was er sprake van een uitbraak, in 5 betrof het een mogelijke uitbraak. Deze gebeurtenissen veroorzaakten slechts een minimale stijging in de incidentie van *C. difficile* in de betreffende instellingen. Type

o78 werd in alle Nederlandse provincies gevonden behalve in Flevoland, en in alle centra die relatief veel (> 20) monsters instuurden. In de figuur staat de geografische verdeling van type o78. In totaal werden in Nederland 29 mogelijke en 5 bevestigde uitbraken geregistreerd. De meeste patiënten werden getroffen door uitbraken met type 001. Het aandeel van type o27, o78, 001 en o14 door de jaren heen is grafisch weergegeven in de tabel. Niet alleen in ziekenhuizen, maar ook in verpleeghuizen kan *C. difficile* uitbraken van diarree veroorzaken. Hoewel er geen systematische surveillance van CDI in verpleeghuizen plaatsvindt, werden in de periode 2005-2009 in 24 Nederlandse verpleeghuizen uitbraken van *C. difficile* opgemerkt waarbij de isolaten naar het referentielaboratorium werden opgestuurd. De typen die hierbij werden gevonden, komen overeen met de typen die in ziekenhuizen worden aangetroffen; bij 12 van de uitbraken betrof het type o27.



FIGUUR Geografische verdeling van PCR-ribotype 078 van *Clostridium difficile* in Nederland in de periode januari 2008 tot en met juni 2009. Alle centra waar type 078 werd gevonden zijn weergegeven als cirkels, sterren met 5 punten en sterren met 4 punten. Een ster met 5 punten geeft een 'uitbraak' aan (dat wil zeggen: ≥ 2 patiënten met het zelfde ribotype binnen 1 week op 1 afdeling), een ster met 4 punten een 'mogelijke uitbraak' (dat wil zeggen: ≥ 2 patiënten met hetzelfde type binnen 1 week in 1 ziekenhuis).

BESCHOUWING

Europese situatie. Niet alleen in Nederland maar ook in Europa is er een verschuiving in PCR-ribotypen opgetreden. In 2005 waren de meest voorkomende typen in Europa 001, o14 en o27. Type 001 is sinds decennia een van de meest voorkomende typen, ook in uitbraaksituaties, terwijl PCR-ribotype 078 slechts sporadisch werd gezien (2%).¹³ Een Europese studie naar de epidemiologie van CDI in 106 laboratoria in 34 landen, liet zien dat de typen o14 en 001 in november 2008 nog steeds het meest voorkwamen (respectievelijk 15% en 9%) maar dat het percentage van type 078 was gestegen naar 8%. In dit onderzoek had 14% van de CDI-patiënten de infectie buiten het ziekenhuis opgelopen.¹⁴

PCR-ribotype 078 Het nieuw opkomende type 078 heeft een aantal eigenschappen gemeenschappelijk met het hypervirulente type o27. Beide typen zijn geassocieerd met ernstige diarree, die mogelijk wordt veroorzaakt door de aanwezigheid van identieke virulentiefactoren, zoals de mogelijkheid om toxines A, B en binair toxine te produceren.⁶ Toxine A en B zorgen voor destructie van intestinale cellen; de functie van binair toxine is nog niet opgehelderd, hoewel een recente studie suggereert dat het een rol speelt bij de hechting aan het darmepitheel.¹⁵ Omdat dit toxine vooral wordt gevonden bij hypervirulente *C. difficile*, wordt het gezien als mogelijke virulentiefactor. Een verandering in het *tcdC*-gen van zowel type o27 als o78 (deletie respectievelijk puntmutatie), dat codeert voor de productie van het negatieve regulator-eiwit TcdC, zorgt ervoor dat de productie van toxine A en B toeneemt.¹⁶

Een verschil tussen patiënten die geïnfecteerd zijn met type 078 en type o27 is dat CDI veroorzaakt door type 078 vaker optreedt bij een jongere patiëntengroep en minder vaak gecompliceerd verloopt.⁶

Type 078 trekt niet alleen de aandacht door zijn toename in Nederland, maar ook doordat dit type in toenemende mate wordt gevonden als verwekker van diarree bij patiënten buiten de ziekenhuizen en bij diverse diersoorten.¹⁷ Een mogelijke oorzaak voor de toename van CDI door type 078 bij dieren en mensen kan de introductie van *C. difficile* zijn in een nog onbekend reservoir, van waaruit de bacterie zich heeft verspreid en andere typen heeft verdrongen. Het is opmerkelijk dat type 078 frequent wordt aangetroffen bij vooral varkens en melkkalveren (83% respectievelijk 94%) en in de Verenigde Staten en Canada ook wordt gevonden in vlees en salades geschikt voor de verkoop (samen met type o27).¹⁸⁻²⁰ In Nederland werd type 078 aangetoond in 2 varkenshouders met uitbraken van neonatale diarree.²¹ Omdat de dierlijke en humane *C. difficile*-isolaten van type 078 ook genetisch zeer sterk aan elkaar verwant zijn, bevestigt dit

TABEL De verdeling van 4 veelvoorkomende PCR-ribotypen van *Clostridium difficile* in Nederland in de periode mei 2005 tot en met juni 2009

ribotype	aantal isolaten (%)				
	2005*	2006	2007	2008	2009*
type 078	6 (4)	76 (11)	88 (12)	92 (12)	39 (9)
type 027	110 (68)	183 (26)	81 (11)	33 (4)	13 (3)
type 001	16 (10)	77 (11)	72 (10)	67 (9)	120 (28)
type 014	1 (1)	94 (13)	129 (17)	96 (13)	40 (9)
overig	29 (18)	274 (39)	368 (50)	453 (61)	218 (51)
totaal	162 (100)	704 (100)	738 (100)	741 (100)	430 (100)

* Doordat er in de jaren 2005 en 2009 gedurende respectievelijk 8 en 6 maanden gegevens zijn verzameld, zijn de absolute aantallen lager dan in de drie tussenliggende jaren.

de hypothese dat er een gemeenschappelijke bron is.^{6, 17, 21} Er zijn evenwel nog geen aanwijzingen dat CDI door type 078 zich als een zoönose presenteert.

Herkenning van infecties met *Clostridium difficile* buiten zorginstellingen Het klassieke beeld van CDI als een infectie in zorginstellingen bij oudere, verzwakte patiënten moet bijgesteld worden. De resultaten van 2 recente studies naar CDI bij patiënten die zich met diarree bij de huisarts presenteren, laten zien dat CDI ook voor kan komen bij gezonde personen die geen van de bekende risicofactoren hebben, zoals een onderliggende ziekte, recente ziekenhuisopname of antibioticagebruik. In 3 Nederlandse laboratoria die samen de diagnostiek voor 1495 huisartsen verzorgden, is in 2008 een onderzoek verricht naar de incidentie van CDI. Bij 1,5% van de 2423 patiënten met diarree die de huisarts verwees voor

fecesonderzoek, werd een infectie met *C. difficile* gevonden. Ruim 18% van de CDI-patiënten was jonger dan 20 jaar en een kwart van de patiënten had geen antibiotica gebruikt of een recente opname in de voorgeschiedenis.³ Deze resultaten komen overeen met die uit een Engels onderzoek, waarbij in 2,1% van 2000 fecesmonsters van patiënten met diarree die een huisarts consulteerden CDI werd gediagnosticeerd. Bij een derde van hen was geen bekende risicofactor aanwezig.²²

Patiënten met een CDI die ze buiten de zorginstelling hebben gekregen, kunnen in een ziekenhuis worden opgenomen met diarree zonder dat de infectie door de huisarts herkend is of door de artsen in het ziekenhuis overwogen wordt. In 2005 is in Nederland bij een studie in 13 ziekenhuizen geconstateerd dat bij 36% van de patiënten met gediagnosticeerde CDI de infectie buiten het ziekenhuis was opgelopen.⁹ Bij 2 patiënten die overleden de gevolgen van de infectie, en die waren opgenomen met ernstige diarree, stond CDI aanvankelijk niet in de differentiaaldiagnose, waardoor herkenning pas laat plaatsvond. Ook zijn recent 2 Nederlandse patiënten beschreven met een ernstige verlopende CDI die buiten het ziekenhuis werd gediagnosticeerd: bij één patiënte ging het om een jonge vrouw zonder bekende risicofactor en een andere patiënt ontwikkelde de infectie na een recente ziekenhuisopname in een instelling waar een uitbraak van CDI gaande was.²³

Nieuwe surveillance en onderzoek Om het onderzoek naar *C. difficile* in Nederland een systematischer karakter te geven, is er sinds juli 2009 een nieuwe nationale surveillance van start gegaan. Hierin participeren 20 ziekenhuizen die systematisch klinische en microbiologische informatie verzamelen van alle opgenomen patiënten met een positieve testuitslag voor *C. difficile*. Deze gegevens worden gekoppeld aan de uitslagen van de PCR-ribotypering. Tevens zal er in 2010 een patiëntcontroleonderzoek starten naar CDI bij patiënten die zich met diarree bij een huisarts melden, om inzicht te krijgen in de risicofactoren en mogelijke reservoirs van *C. difficile* buiten het ziekenhuis. Dit onderzoek is in samenwerking de afdeling Institute for Risk Assessment Sciences van de Faculteit Diergeneeskunde van de Universiteit Utrecht, die de surveillance van CDI bij varkenshouderijen onderzoekt.

CONCLUSIE

Het aantal uitbraken van CDI door PCR-ribotype 027 is in Nederland gedaald. Na een snelle opkomst van type 078 sinds eind 2006 is dit type momenteel het derde meest voorkomende type in Nederland na type 001 en 014. De verschuiving in typen gebeurt frequent en wordt behalve in Nederland ook in Europa gezien. Type 078

LEERPUNTEN

- De epidemiologie van infectie met *Clostridium difficile* (CDI) verandert: er worden meer en ernstiger infecties gediagnosticeerd, ook bij patiënten buiten zorginstellingen en zonder bekende risicofactoren zoals een recente opname, een onderliggende ziekte of antibioticagebruik.
- Ook wordt CDI in toenemende mate herkend bij dieren.
- Een verschuiving in het voorkomen van verschillende PCR-ribotypen speelt bij deze epidemiologische verschuiving een belangrijke rol: in Nederland wordt het hypervirulente type 027, dat vanaf 2004 voor veel uitbraken zorgde, steeds minder gezien, terwijl type 078, dat over dezelfde virulentiefactoren beschikt en ook buiten de zorginstellingen voorkomt, na een initiële toename nu een stabiele derde plaats inneemt.

trekt nu aandacht door zijn hypervirulente karakter en het frequent voorkomen als verwekker van diarree bij varkens. In toenemende mate wordt CDI ook buiten de zorginstelling gediagnosticeerd bij patiënten die zich met diarree bij de huisarts presenteren en die niet een van de bekende risicofactoren voor CDI hebben, zoals een onderliggende ziekte, recente ziekenhuisopname of antibioticagebruik. Omdat het beloop van CDI bij patiënten ouder dan 65 jaar vaak ernstiger is en met meer complicaties gepaard gaat, betekent dit dat de huisarts bij vooral oudere patiënten met infectieuze diarree zonder bekende verwekker, moet overwegen ook *C. difficile* in de differentiaaldiagnose op te nemen om eventueel een gerichte behandeling in te kunnen stellen.

Naschrift Na de indiening van dit artikel deden zich in 2010 in 2 ziekenhuizen en in een verpleeghuis uitbraken van PCR-ribotype 027 voor, die door snelle herkenning van beperkte omvang bleven.

Belangenconflict: geen gemeld. Financiële ondersteuning: geen gemeld.

Aanvaard op 24 februari 2010

Citeer als: Ned Tijdschr Geneeskd. 2010;154:A1317

 [Meer op www.ntvg.nl/onderzoek](http://www.ntvg.nl/onderzoek)

LITERATUUR

- Bartlett JG. Clinical practice. Antibiotic-associated diarrhea. *N Engl J Med.* 2002;346:334-9.
- Belmares J, Johnson S, Parada JP, et al. Molecular epidemiology of *Clostridium difficile* over the course of 10 years in a tertiary care hospital. *Clin Infect Dis.* 2009;49:1141-7.
- Bauer MP, Veenendaal D, Verhoef L, Bloembergen P, van Dissel JT, Kuijper EJ. Clinical and microbiological characteristics of community-onset *Clostridium difficile* infection in The Netherlands. *Clin Microbiol Infect.* 2009;15:1087-92.
- Pepin J, Valiquette L, Alary ME, et al. *Clostridium difficile*-associated diarrhea in a region of Quebec from 1991 to 2003: a changing pattern of disease severity. *CMAJ.* 2004;171:466-72.
- Loo VG, Poirier L, Miller MA, et al. A predominantly clonal multi-institutional outbreak of *Clostridium difficile*-associated diarrhea with high morbidity and mortality. *N Engl J Med.* 2005;353:2442-9.
- Goorhuis A, Bakker D, Corver J, et al. Emergence of *Clostridium difficile* infection due to a new hypervirulent strain, polymerase chain reaction ribotype 078. *Clin Infect Dis.* 2008;47:1162-70.
- Pepin J, Valiquette L, Cossette B. Mortality attributable to nosocomial *Clostridium difficile*-associated disease during an epidemic caused by a hypervirulent strain in Quebec. *CMAJ.* 2005;173:1037-42.
- Goorhuis A, van der KT, Vaessen N et al. Spread and epidemiology of *Clostridium difficile* polymerase chain reaction ribotype 027/toxinotype III in The Netherlands. *Clin Infect Dis.* 2007;45:695-703.
- Paltansing S, van den Berg RJ, Guseinova RA, Visser CE, van d, V, Kuijper EJ. Characteristics and incidence of *Clostridium difficile*-associated disease in The Netherlands, 2005. *Clin Microbiol Infect.* 2007;13:1058-64.
- Notermans DW, van der Kooi TI, Goorhuis A, Debast SB, van Benthem BH, Kuijper EJ. *Ned Tijdschr Geneeskd.* 2008;152:1937-40.
- Debast SB, Vaessen N, Choudry A, Wieggers-Ligtvoet EA, van den Berg RJ, Kuijper EJ. Successful combat of an outbreak due to *Clostridium difficile* PCR ribotype 027 and recognition of specific risk factors. *Clin Microbiol Infect.* 2009;15:427-34.
- Hensgens MP, Goorhuis A, Notermans DW, van Benthem BH, Kuijper EJ. Decrease of hypervirulent *Clostridium difficile* PCR ribotype 027 in the Netherlands. *Euro Surveill.* 2009;14(45).
- Barbut F, Mastrantonio P, Delmee M, Brazier J, Kuijper E, Poxton I. Prospective study of *Clostridium difficile* infections in Europe with phenotypic and genotypic characterisation of the isolates. *Clin Microbiol Infect.* 2007;13:1048-57.
- Notermans DW, Bauer MP, van Benthem BH, Kuijper EJ. European *Clostridium difficile* infection survey (ECDIS); capacity building in *C. difficile* identification and characterization. RIVM report V/230744/01/CD/2009. Bilthoven: RIVM; 2009.
- Schwan C, Stecher B, Tzivelekidis T, et al. *Clostridium difficile* toxin CDT induces formation of microtubule-based protrusions and increases adherence of bacteria. *PLoS Pathog.* 2009;5:e1000626.
- Dawson LF, Valiente E, Wren BW. *Clostridium difficile* – A continually evolving and problematic pathogen. *Infect Genet Evol.* 2009;9:1410-7.
- Rupnik M. Is *Clostridium difficile*-associated infection a potentially zoonotic and foodborne disease? *Clin Microbiol Infect.* 2007;13:457-9.
- Jhung MA, Thompson AD, Killgore GE, et al. Toxinotype V *Clostridium difficile* in Humans and Food Animals. *Emerg Infect Dis.* 2008;14:1039-45.
- Keel K, Brazier JS, Post KW, Weese S, Songer JG. Prevalence of PCR ribotypes among *Clostridium difficile* isolates from pigs, calves, and other species. *J Clin Microbiol.* 2007;45:1963-4.
- Songer JG, Trinh HT, Killgore GE, Thompson AD, McDonald LC, Limbago BM. *Clostridium difficile* in retail meat products, USA, 2007. *Emerg Infect Dis.* 2009;15:819-21.
- Debast SB, van Leengoed LA, Goorhuis A, Harmanus C, Kuijper EJ, Bergwerff AA. *Clostridium difficile* PCR ribotype 078 toxinotype V found in diarrhoeal pigs identical to isolates from affected humans. *Environ Microbiol.* 2009;11:505-511.
- Wilcox MH, Mooney L, Bendall R, Settle CD, Fawley WN. A case-control study of community-associated *Clostridium difficile* infection. *J Antimicrob Chemother.* 2008;62:388-96.
- Bauer MP, Goorhuis A, Koster T, et al. Community-onset *Clostridium difficile*-associated diarrhoea not associated with antibiotic usage—two case reports with review of the changing epidemiology of *Clostridium difficile*-associated diarrhoea. *Neth J Med.* 2008;66:207-11.