

Éditorial

Infections à *Clostridium difficile* : une ré-émergence inattendue

Clostridium difficile infections: An unexpected re-emergence

Mots clés : Diarrhée ; Colite ; Antibiotique ; Toxine ; Nosocomiale ; Spores ; PCR-ribotype « 027 » ; Épidémie

Keywords: Diarrhea; Colitis; Antibiotics; Toxin; Nosocomial; Spores; PCR-ribotype « 027 »; Outbreak

1. De la découverte du rôle de *Clostridium difficile*...

Depuis leur apparition en thérapeutique, les antibiotiques ont toujours été incriminés dans la survenue de diarrhées et/ou de colites iatrogènes dont la fréquence varie, selon les études, de 1 à 30 % [1].

À partir des années cinquante, le chloramphénicol et les tétracyclines ont été rendus responsables d'une atteinte très particulière de la muqueuse digestive, la colite pseudomembraneuse (CPM) dont la fréquence a significativement augmenté avec l'introduction de la clindamycine dans les années soixante-dix [2]. À cette époque, on pensait que *Staphylococcus aureus* était l'agent responsable de ces troubles digestifs qui s'amélioraient sous vancomycine per os. Le rôle de *Clostridium difficile* (bactérie anaérobie découverte en 1935 par Hall et O'Toole) dans les diarrhées postantibiotiques ne fut reconnu qu'à la fin des années soixante-dix, lorsque deux équipes montrèrent l'existence d'une activité cytotoxique et la présence de *C. difficile* dans les selles de patients souffrant de colite pseudomembraneuse (CPM) postantibiotique [3,4]. Ces travaux suscitèrent l'intérêt de la communauté médicale et, quelques années plus tard, les toxines de *C. difficile* furent identifiées et caractérisées [5].

2. ...à la connaissance des ICD

L'augmentation constante de la consommation des antibiotiques a renforcé le rôle de *C. difficile* qui s'est imposé comme un entéropathogène de première importance, responsable de plus de 95 % des cas de CPM et de 10 à 25 % des diarrhées postantibiotiques [6–8]. Il est aujourd'hui considéré comme la principale cause infectieuse de diarrhées nosocomiales chez les patients adultes. La mortalité imputable aux infections à *C. difficile* (ICD) varie habituellement de 0,6 à 1,5 % mais peut aussi atteindre de 35 à 50 % en cas de

complications (choc septique, mégacolon toxique, perforation colique) [9,10].

Aujourd'hui, plus de 650 publications scientifiques sont consacrées chaque année à *C. difficile*. Elles ont permis de mieux cerner l'épidémiologie des ICD, de mieux en comprendre la physiopathologie et de proposer des traitements adaptés.

Les deux principaux facteurs de risque d'ICD sont l'âge supérieur à 65 ans et l'antibiothérapie [11]. Par leur action sur la flore de barrière, les antibiotiques facilitent l'implantation de *C. difficile* dans le tube digestif et/ou son émergence. Tous les antibiotiques ont été incriminés dans la survenue d'ICD, mais les plus à risques sont ceux qui ont une activité sur les germes anaérobies de la flore de barrière (amoxicilline associée à l'acide clavulanique, céphalosporines, lincosamides en particulier). La virulence des souches de *C. difficile* est liée à la sécrétion de deux toxines protéiques : la toxine A (TcdA) et la toxine B (TcdB). Elles sont codées respectivement par les gènes *tcdA* et *tcdB* qui forment avec trois gènes accessoires (*tcdC*, *tcdE*, *tcdR*) un locus de pathogénicité de 19,6 kB connu sous le nom de PaLoc [12]. Les toxines A et B, ont à la fois, des propriétés cytotoxiques et entérotoxiques [13]. Les souches non toxigènes ne sont pas pathogènes.

La contamination par *C. difficile* a lieu par voie féco-orale et sa transmission de personne à personne s'effectue directement par manupontage ou, à partir d'un environnement contaminé. Le rôle de l'environnement, bien que difficilement quantifiable, semble important dans le cadre de *C. difficile*. En effet, la contamination environnementale d'un patient atteint d'ICD est remarquablement élevée, pouvant atteindre plus de 50 % [14]. De plus, les spores de *C. difficile* sont résistantes à de nombreux désinfectants et peuvent persister pendant plusieurs semaines dans l'environnement du patient infecté [15].

L'incidence des ICD à l'hôpital varie de un à dix pour 1000 admissions. Elle dépend essentiellement de la sensibilisation

des médecins à prescrire une recherche de *C. difficile* devant tout cas de diarrhée nosocomiale ou de diarrhée postantibiotiques. En France, on estime que le nombre d'ICD survenant chaque année dans les établissements de santé varie entre 6900 et 41 000, tous types de séjour confondus [16] et entre 40 et 1240 décès seraient liés à une ICD chaque année. Les ICD diagnostiquées à l'hôpital sont d'origine nosocomiale dans environ 70 % des cas [17,18]. Elles surviennent volontiers sous forme d'épidémies, notamment dans les services de réanimation, de maladies infectieuses, d'hématologie et de gériatrie.

Jusqu'au début des années 1990, le diagnostic des ICD reposait exclusivement sur le test de cytotoxicité, méthode qui est considérée encore aujourd'hui comme le « gold standard ». Cette méthode est cependant longue, requiert une infrastructure adaptée à la culture cellulaire et n'est utilisée que par un petit nombre de laboratoires. La commercialisation de tests immuno-enzymatiques, plus rapides et plus simples, a constitué un réel progrès en matière de diagnostic même si leur sensibilité reste inférieure à celle du test de cytotoxicité.

D'un point de vue thérapeutique, le simple retrait de l'antibiotique inducteur suffit, dans 25 % des cas, à améliorer les symptômes. En cas d'impossibilité ou de persistance de la diarrhée, le traitement de première intention des ICD repose sur l'administration de métronidazole per os. La vancomycine per os est en général réservée aux formes sévères d'ICD, en raison d'une part de son coût et, d'autre part, du risque d'émergence d'entérocoques résistants à la vancomycine. Les succès thérapeutiques des traitements par métronidazole ou vancomycine sont équivalents, dépassant en général 85 %. Aucun échec thérapeutique n'a été, à ce jour, lié à une diminution de sensibilité des souches de *C. difficile* au métronidazole ou à la vancomycine. Le problème majeur des ICD est les rechutes qui surviennent chez environ 20 % des patients dans les deux mois qui suivent l'épisode initial. Ces rechutes sont liées soit à la persistance de spores de *C. difficile* dans le tube digestif en dépit d'un traitement antibiotique adapté et efficace, soit à l'acquisition d'une nouvelle souche de *C. difficile* au cours de l'hospitalisation.

3. Le nouveau visage des ICD

Depuis 2003, *C. difficile* connaît un regain d'intérêt. En effet, une évolution inattendue des ICD a été constatée en Amérique du Nord et en Europe avec une augmentation de la fréquence et de la sévérité des ICD et une moins bonne réponse aux traitements standards. Cette évolution semble liée à l'émergence puis la dissémination internationale d'un clone particulier de *C. difficile* appelé « 027 » ou « NAP1 ».

L'histoire a débuté au Québec, dans la région de Sherbrooke, où l'incidence des ICD chez les patients de plus de 65 ans a été multipliée par huit en dix ans (passant de 102 cas par 100 000 habitants en 1991 à 866 par 100 000 habitants cas en 2003) [19]. Au cours d'une surveillance prospective menée dans 12 hôpitaux du Québec en 2004, l'incidence globale des ICD atteignait 22,5 pour 1000 admissions [20] alors que celle-ci n'était que de six pour 1000 admissions en 1997 [21]. Le même constat était fait simultanément aux États-Unis : des études

rétrospectives établies à partir des données hospitalières ont indiqué une augmentation par deux ou trois de l'incidence des ICD depuis 1996 [22,23] chez les personnes de plus de 65 ans.

Parallèlement à l'augmentation d'incidence, les formes sévères sont devenues plus fréquentes. Dans une étude rétrospective québécoise, la proportion de formes compliquées (choc septique et/ou mégacolon toxique et/ou perforation digestive) est passée de 7,1 % dans les années 1991–1992 à 18,2 % en 2003 ($p < 0,001$) [19]. La létalité a été multipliée par trois entre 1990 et 2003, atteignant 13,8 % à 30 jours. Extrapolée à l'ensemble des hôpitaux du Québec, ces données suggèrent que 1000 à 2000 patients auraient pu décéder d'ICD [24]. Dans une étude prospective de 1719 cas d'ICD d'origine nosocomiale, la mortalité directement imputable à l'infection atteignait 6,9 % [20].

Au cours de la même période, plusieurs études ont rapporté une moins bonne réponse aux traitements par métronidazole [19,24–26]. Par exemple, le taux d'échecs thérapeutiques par métronidazole a été multiplié par 2,5 entre 2002 et 2004 (9,6 versus 25,7 %) et le taux de rechutes à deux mois de l'épisode initial a été multiplié par deux chez les patients âgés de plus de 65 ans (28,9 versus 58,4 %) [27].

Cette évolution inattendue semble être liée à l'émergence puis la dissémination d'un clone particulier de *C. difficile* appelé « NAP1 » ou « 027 ». Ce clone, qui était rarement isolé avant les années 1990 (moins de 0,2 % des isolats), est devenu très rapidement endémique puisqu'il représentait 82 % des souches isolées au Québec fin 2003 et plus de la moitié des souches de *C. difficile* isolées dans cinq hôpitaux des États-Unis qui avaient connu des épidémies entre 2000 et 2003 [28]. Ce clone a été rapidement caractérisé afin de comprendre les raisons de son émergence et de sa plus grande virulence. Warny et al. [29] ont ainsi montré que les souches épidémiques « 027 », secrètent in vitro, respectivement 16 et 23 fois plus de toxines A et B que les souches habituelles (c'est-à-dire de toxinotype 0) de *C. difficile*. Cette hyperproduction de toxines serait due à la présence d'une délétion ponctuelle en position 117 du gène *tdcC* qui réprime l'expression des toxines A et B [30]. Soulignons cependant que la corrélation entre le niveau de production in vitro des toxines par les souches de *C. difficile* et leur virulence n'a jamais été formellement démontrée. Le clone épidémique « 027 » est également producteur d'une troisième toxine appelée « toxine binaire » qui pourrait aussi agir en potentialisant les effets des toxines A et B au niveau du cytosquelette d'actine par un mécanisme complémentaire.

Du point de vue de sa sensibilité aux antibiotiques, le clone « 027 » est caractérisé par sa résistance aux nouvelles fluoroquinolones (moxifloxacine, levofloxacine, gatifloxacine) et à l'érythromycine [20,28,30–32]. Il demeure sensible au métronidazole et à la vancomycine. L'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé pourrait constituer, en France, une méthode intéressante de dépistage du clone épidémique. En effet, selon les données récentes issues du laboratoire de microbiologie de l'hôpital Saint-Antoine, moins de 3 % des souches de *C. difficile* seraient résistantes à la fois à l'érythromycine et à la moxifloxacine (V. Lalande, données personnelles).

Ce clone, initialement isolé en Amérique du Nord, est apparu dès 2003 en Europe et a été impliqué dans des épidémies en Grande-Bretagne [33], aux Pays-Bas (2005) [34], en Belgique (2005) [35] puis en France (2006). La première épidémie en France a été notifiée à l'InVS en mars 2006, par un établissement du Nord-Pas-de-Calais [36]. Cette épidémie a concerné 41 cas d'infection entre janvier et mai 2006. La diffusion du clone s'est rapidement étendue à d'autres établissements du Nord-Pas-de-Calais, et à la date du 4 avril 2007, 41 établissements de santé avaient signalé un total de 515 cas d'ICD ; sur 410 souches transmises au centre de référence, 266 (65 %) appartenaient au clone épidémique de type « 027 ». Les patients concernés étaient âgés (âge médian 82 ans), plus fréquemment de sexe féminin (sex-ratio H/F = 0,49) et hospitalisés principalement en services de gériatrie ou rééducation. Sur les 515 cas recensés, 70 (14 %) correspondaient à des formes sévères ; 108 (21 %) patients sont décédés et pour 23 (4 %) d'entre eux, le décès était considéré comme au moins partiellement imputable à l'ICD. Hors région Nord-Pas-de-Calais, 118 établissements ont signalé un total de 347 cas d'ICD. Sur 161 souches transmises au centre de référence, 11 (7 %) appartenaient au clone épidémique de type « 027 » et étaient isolées dans cinq établissements de trois départements (Somme, Rhône et Moselle).

4. Les hypothèses

La communauté médicale et scientifique s'interroge toujours sur les facteurs qui ont pu favoriser une telle évolution des ICD et l'émergence d'un clone particulier.

Une des premières hypothèses avancées a été d'incriminer l'utilisation croissante des produits hydroalcooliques (PHA) pour l'hygiène des mains, en argumentant que celles-ci étaient inefficaces sur les spores de *C. difficile*. Cette hypothèse a été réfutée par plusieurs études, basées sur la comparaison de séries historiques, qui ont indiqué clairement l'absence d'association entre la fréquence d'utilisation des PHA et l'augmentation d'incidence des ICD [37,38].

D'autres ont évoqué une meilleure capacité de sporulation de la souche « 027 » par rapport à d'autres souches de *C. difficile* (Underwood S. et al., ICAAC 2005), ce qui lui permettrait de persister plus longtemps sur les surfaces inertes. Les plus hauts niveaux de sporulation seraient notamment atteints lorsque les souches sont exposées aux agents détergents désinfectants non chlorés habituellement utilisés en milieu hospitalier. Cette hypothèse est certes intéressante mais requiert davantage d'études scientifiques avant d'être validée.

L'hypothèse la plus solide à ce jour expliquant la dissémination du clone « 027 », repose sur la pression de sélection croissante des nouvelles fluoroquinolones (moxifloxacine, levofloxacine, gatifloxacine). Ces antibiotiques, par leur activité sur la flore anaérobie, permettent de détruire la flore de barrière, contribuent à une diminution de la résistance à la colonisation et favoriseraient l'émergence du clone « 027 » qui, par sa résistance, présente un avantage sélectif. Cette hypothèse est d'autant plus vraisemblable que les nouvelles fluoroquinolones ont été associées, dans plusieurs études récentes, à un risque plus grand d'ICD [26,39].

5. Les nouvelles craintes

De nouvelles inquiétudes sur l'évolution des infections à *C. difficile* se dessinent déjà à l'horizon.

La première concerne la survenue d'ICD, parfois sévères, dans des populations considérées jusque-là comme à faible risque (femmes en péri-partum, formes communautaires) [40] et la dissémination du clone « 027 » dans le milieu communautaire.

La seconde repose sur l'augmentation de la prévalence de souches productrices de toxine binaire [41]. Plusieurs études ont récemment suggéré que cette toxine est associée à des formes cliniques d'ICD plus sévères [18,42]. Le fait que cette toxine soit produite par le clone hypervirulent « 027 » constitue un argument supplémentaire plaçant en faveur de son rôle dans la virulence.

Enfin, la troisième inquiétude concerne l'identification de *C. difficile* comme un entéropathogène émergent chez l'animal (chevaux, veaux, porcs). Un nombre croissant d'études a montré que *C. difficile* était responsable de pathologies digestives chez l'animal [43,44] et certaines suggèrent un recouvrement partiel des souches isolées chez l'animal et chez l'homme incluant des souches responsables d'épidémies telles les souches de PCR ribotype « 027 » et « 017 » [45]. Par ailleurs, des cas de transmission de *C. difficile* de l'animal à l'homme ont été documentés. Enfin, la récente mise en évidence de *C. difficile* dans environ 20 % des lots de viandes destinés à la consommation humaine [46] fait craindre un mécanisme de transmission par les aliments et mérite des investigations approfondies.

Références

- [1] Beaugerie L, Flahault A, Barbut F, Atlan P, Lalande V, Cousin P, et al. Antibiotic-associated diarrhoea and *Clostridium difficile* in the community. *Aliment Pharmacol Ther* 2003;17(7):905–12.
- [2] Tedesco FJ, Barton RW, Alpers DH. Clindamycin-associated colitis. A prospective study. *Ann Intern Med* 1974;81(4):429–33.
- [3] Bartlett JG, Chang T, Taylor NS, Onderdonk AB. Colitis induced by *Clostridium difficile*. *Rev Infect Dis* 1979;1(2):370–8.
- [4] Larson HE, Price AB, Honour P, Borriello SP. *Clostridium difficile* and the aetiology of pseudomembranous colitis. *Lancet* 1978;1(8073):1063–6.
- [5] Banno Y, Kobayashi T, Kono H, Watanabe K, Ueno K, Nozawa Y. Biochemical characterization and biologic actions of two toxins (D-1 and D-2) from *Clostridium difficile*. *Rev Infect Dis* 1984;6(Suppl 1):S11–20.
- [6] Barbut F, Petit JC. Epidemiology of *Clostridium difficile*-associated infections. *Clin Microbiol Infect* 2001;7(8):405–10.
- [7] Bartlett JG. Narrative review: the new epidemic of *Clostridium difficile*-associated enteric disease. *Ann Intern Med* 2006;145(10):758–64.
- [8] Lyerly DM, Krivan HC, Wilkins TD. *Clostridium difficile*: its disease and toxins. *Clin Microbiol Rev* 1988;1(1):1–18.
- [9] Morris JB, Zollinger Jr RM, Stellato TA. Role of surgery in antibiotic-induced pseudomembranous enterocolitis. *Am J Surg* 1990;160(5):535–9.
- [10] Olson MM, Shanholtzer CJ, Lee Jr JT, Gerding DN. Ten years of prospective *Clostridium difficile*-associated disease surveillance and treatment at the Minneapolis VA Medical Center, 1982–1991. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1994;15(6):371–81.
- [11] Kelly CP, Pothoulakis C, LaMont JT. *Clostridium difficile* colitis. *N Engl J Med* 1994;330(4):257–62.
- [12] Rupnik M, Dupuy B, Fairweather NF, Gerding DN, Johnson S, Just I, et al. Revised nomenclature of *Clostridium difficile* toxins and associated genes. *J Med Microbiol* 2005;54:113–7.

- [13] Savidge TC, Pan WH, Newman P, O'Brien M, Anton PM, Pothoulakis C. *Clostridium difficile* toxin B is an inflammatory enterotoxin in human intestine. *Gastroenterology* 2003;125(2):413–20.
- [14] McFarland LV, Mulligan ME, Kwok RY, Stamm WE. Nosocomial acquisition of *Clostridium difficile* infection. *N Engl J Med* 1989;320(4):204–10.
- [15] Barbut F, Gotty S, Magne S, Bernardon S, Burghoffer B, Ribadeau-Dumas F, et al. *Clostridium difficile* : hygiène des mains et environnement. *Hygiènes* 2003;6:449–55.
- [16] Réseau d'Alerte d'Investigation et de Surveillance des Infections Nosocomiales. Conduite à tenir : diagnostic, surveillance, investigation, prévention et contrôle des infections à *Clostridium difficile*: Institut de Veille Sanitaire; 2006.
- [17] Svenungsson B, Burman LG, Jalakas-Pornull K, Lagergren A, Struwe J, Akerlund T. Epidemiology and molecular characterization of *Clostridium difficile* strains from patients with diarrhea: low disease incidence and evidence of limited cross-infection in a Swedish teaching hospital. *J Clin Microbiol* 2003;41(9):4031–7.
- [18] Barbut F, Giarizzo B, Bonne L, Lalonde V, Burghoffer B, Luiuz R, et al. Clinical Features of *Clostridium difficile*-associated infections and Molecular Characterization of Strains: Results of a Retrospective Study, 2000–2004. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2007;28(2):131–9.
- [19] Pepin J, Valiquette L, Alary ME, Villemure P, Pelletier A, Forget K, et al. *Clostridium difficile*-associated diarrhea in a region of Quebec from 1991 to 2003: a changing pattern of disease severity. *Cmaj* 2004;171(5):466–72.
- [20] Loo VG, Libman MD, Miller MA, Bourgault AM, Frenette CH, Kelly M, et al. *Clostridium difficile*: a formidable foe. *Cmaj* 2004;171(1):47–8.
- [21] Miller MA, Hyland M, Ofner-Agostini M, Gourdeau M, Ishak M. Morbidity, mortality, and healthcare burden of nosocomial *Clostridium difficile*-associated diarrhea in Canadian hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2002;23(3):137–40.
- [22] McDonald LC, Owings M, Jernigan DB. *Clostridium difficile* infection in patients discharged from US short-stay hospitals, 1996–2003. *Emerg Infect Dis* 2006;12(3):409–15.
- [23] Polk RE, Oinonen M, Pakyz A. Epidemic *Clostridium difficile*. *N Engl J Med* 2006;354(11):1199–203. author reply –203.
- [24] 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(9):1037–42.
- [25] Musher DM, Aslam S, Logan N, Nallacheru S, Bhaila I, Borchert F, et al. Relatively poor outcome after treatment of *Clostridium difficile* colitis with metronidazole. *Clin Infect Dis* 2005;40(11):1586–90.
- [26] Muto CA, Pokrywka M, Shutt K, Mendelsohn AB, Nouri K, Posey K, et al. A large outbreak of *Clostridium difficile*-associated disease with an unexpected proportion of deaths and colectomies at a teaching hospital following increased fluoroquinolone use. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005;26(3):273–80.
- [27] Pepin J, Alary ME, Valiquette L, Raiche E, Ruel J, Fulop K, et al. Increasing risk of relapse after treatment of *Clostridium difficile* colitis in Quebec, Canada. *Clin Infect Dis* 2005;40(11):1591–7.
- [28] McDonald LC, Killgore GE, Thompson A, Owens Jr RC, Kazakova SV, Sambol SP, et al. An Epidemic, Toxin Gene-Variant Strain of *Clostridium difficile*. *N Engl J Med* 2005;353:2433–41.
- [29] Warny M, Pepin J, Fang A, Killgore G, Thompson A, Brazier J, et al. Toxin production by an emerging strain of *Clostridium difficile* associated with outbreaks of severe disease in North America and Europe. *Lancet* 2005;366(9491):1079–84.
- [30] MacCannell DR, Louie TJ, Gregson DB, Laverdiere M, Labbe AC, Laing F, et al. Molecular analysis of *Clostridium difficile* PCR ribotype 027 isolates from Eastern and Western Canada. *J Clin Microbiol* 2006;44(6):2147–52.
- [31] Bourgault AM, Lamothe F, Loo VG, Poirier L. In Vitro Susceptibility of *Clostridium difficile* Clinical Isolates from a Multi-Institutional Outbreak in Southern Quebec, Canada. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50(10):3473–5.
- [32] Hubert B, Loo VG, Bourgault AM, Poirier L, Dascal A, Fortin E, et al. A Portrait of the Geographic Dissemination of the *Clostridium difficile* North American Pulsed-Field Type 1 Strain and the Epidemiology of *C. difficile*-Associated Disease in Quebec. *Clin Infect Dis* 2007;44(2):238–44.
- [33] Smith A. Outbreak of *Clostridium difficile* infection in an English hospital linked to hypertoxin-producing strains in Canada and the US. *Euro Surveill* 2005;10(6):E050630 2.
- [34] Kuijper EJ, Van den Berg RJ, Debast S, Visser CE, Veenendaal D, Troelstra A, et al. *Clostridium difficile* ribotype 027, toxinotype III, The Netherlands. *Emerging Infectious Diseases* 2006;12(5):827–30.
- [35] Joseph R, Demeyer D, Vanrenterghem D, van den Berg R, Kuijper E, Delmee M. First isolation of *Clostridium difficile* PCR ribotype 027, toxinotype III in Belgium. *Euro Surveill* 2005;10(10):E051020 4.
- [36] Tachon M, Cattoen C, Blanckaert K, Poujol I, Carbonne A, Barbut F et al. First cluster of *C. difficile* toxinotype III, PCR-ribotype 027 associated disease in France: preliminary report. *Euro Surveill* 2006;11(5):E060504 1.
- [37] Boyce JM, Ligi C, Kohan C, Dumigan D, Havill NL. Lack of association between the increased incidence of *Clostridium difficile*-associated disease and the increasing use of alcohol-based hand rubs. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2006;27(5):479–83.
- [38] Gordin FM, Schultz ME, Huber RA, Gill JA. Reduction in nosocomial transmission of drug-resistant bacteria after introduction of an alcohol-based handrub. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005;26(7):650–3.
- [39] Pepin J, Saheb N, Coulombe MA, Alary ME, Corriveau MP, Authier S, et al. Emergence of fluoroquinolones as the predominant risk factor for *Clostridium difficile*-associated diarrhea: a cohort study during an epidemic in Quebec. *Clin Infect Dis* 2005;41(9):1254–60.
- [40] CDC. Severe *Clostridium difficile*-associated disease in populations previously at low risk—four states, 2005. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2005;54(47):1201–5.
- [41] Spigaglia P, Mastrantonio P. Comparative analysis of *Clostridium difficile* clinical isolates belonging to different genetic lineages and time periods. *J Med Microbiol* 2004;53(Pt 11):1129–36.
- [42] Barbut F, Decre D, Lalonde V, Burghoffer B, Noussair L, Gigandon A, et al. Clinical features of *Clostridium difficile*-associated diarrhoea due to binary toxin (actin-specific ADP-ribosyltransferase)-producing strains. *J Med Microbiol* 2005;54(Pt 2):181–5.
- [43] Arroyo LG, Stampfli HR, Weese JS. Potential role of *Clostridium difficile* as a cause of duodenitis-proximal jejunitis in horses. *J Med Microbiol* 2006;55(Pt 5):605–8.
- [44] Rodriguez-Palacios A, Stampfli HR, Duffield T, et al. *Clostridium difficile* PCR ribotypes in calves, Canada. *Emerg Infect Dis* 2006;12(11):1730–6.
- [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(6):1963–4.
- [46] Rodriguez-Palacios A, Staempfli HR, Duffield T, Weese JS. *Clostridium difficile* in retail ground meat, Canada. *Emerg Infect Dis* 2007;13(3):485–7.

F. Barbut

Unité d'hygiène et de lutte contre les infections nosocomiales (UHLIN), hôpital Saint-Antoine, 184, rue du Faubourg-Saint-Antoine, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, 75012 Paris cedex 12, France

Laboratoire associé au centre national de référence des bactéries anaérobies et du botulisme, 25/28, rue du Docteur Roux, Institut Pasteur, 75724 Paris cedex 15, France
Adresse e-mail : frederic.barbut@sat.ap-hop-paris.fr

23 août 2007