

Bijlage 2. Evidence based literatuuronderzoek

Literatuursearch

Voor de richtlijn *Clostridium difficile* heeft Jolanda Hoefnagel, arts infectieziektenbestrijding i.o., een knelpuntenanalyse uitgevoerd. Op basis hiervan zijn zes uitgangsvragen geformuleerd. Een literatuursearch is gedaan in Embase en in Medline.

Uitgangsvragen:

1. Zijn de infectiepreventieve maatregelen die beschreven zijn voor *Clostridium difficile* ribotype 027 direct al van belang bij alle uitbraken met *Clostridium* (alle varianten) gezien de tijdsdelay totdat de *Clostridium* typering bekend is?

In de periode 2005-2008 heeft *C. difficile* ribotype 027 voor veel uitbraken in Nederlandse zorginstellingen gezorgd (Goorhuis 2007). Ribotype 027 is virulenter dan de andere veel voorkomende ribotypen van *C. difficile* en geeft daarmee ook een hogere morbiditeit en mortaliteit (Warny 2005, Barbut 2007, Kuijper 2008). Dit heeft toen geleid tot het opstellen van een draaiboek specifiek voor type 027. Echter, er zijn enkele andere ribotypen welke even virulent zijn als type 027 (type 078 bijvoorbeeld), en ook verheffingen of uitbraken kunnen veroorzaken, zoals type 176 (Nyc 2011; Goorhuis 2008).

De maatregelen die men dient te nemen bij een geval, een verheffing of een uitbraak zijn onder andere gebaseerd op besmettelijkheid. In de gepubliceerde richtlijnen en aanbevelingen wordt geen onderscheid gemaakt tussen de verschillende typen. De expert opinion is dat de besmettelijkheid afhangt van de mate van sporenvorming, de mate van diarree en de setting waarin de patiënt zich bevindt. Type 027 zou mogelijk meer sporen vormen, maar daarvoor zijn geen duidelijke bewijzen beschikbaar. Ook zijn er aanwijzingen dat de verspreiding sneller gaat bij het gebruik van fluorochinolonen. De te nemen maatregelen zijn daarom niet zozeer afhankelijk van het ribotype, maar eerder van de soort instelling, en of er een verheffing of een uitbraak gaande is (zie het LCI-draaiboek '*Clostridium difficile*', en de WIP-richtlijn '*Infectiepreventieve maatregelen bij Clostridium difficile*').

Conclusie:

Geconcludeerd kan worden dat dezelfde infectiepreventieve maatregelen bij de verschillende *C. difficile* ribotypen geïndiceerd zijn. De te nemen maatregelen zijn afhankelijk van de setting en of er sprake is van een uitbraak.

2. Wanneer dient bij de behandeling van de infectie van *C. difficile* de overstap van metronidazol naar een glycopeptide plaats te vinden?

Metronidazol en glycopeptiden zoals vancomycine en teicoplanin zijn even effectief bij milde infecties met *C. difficile* (Zar 2007; Teasley 1983). Echter, bij ernstige infecties met *C. difficile* heeft vancomycine een hoger genezingspercentage dan metronidazol, zo blijkt uit een groot gerandomiseerd onderzoek (Zar 2007). Het aantal recidieven is voor beide middelen gelijk (Zar 2007; Pepin 2006). De bijwerkingen zijn ook niet significant verschillend (Pepin; Drekonja).

Een nadeel van vancomycine en teicoplanin is het risico op selectie van vancomycine-resistente enterokokken in de darm, hoewel dit in Nederland geen rol van betekenis heeft (Al-Nassir 2008). Daarnaast zijn de kosten van glycopeptiden een factor 10 hoger dan die van metronidazol (Teasley 1983) (bron: CVZ, www.medicijnkosten.nl).

De volgende redenen kunnen aanleiding geven om over te stappen van metronidazol naar glycopeptiden, of direct te starten met glycopeptiden:

A. Wanneer de patiënt niet lijkt te reageren na 2 tot 3 dagen behandeling met metronidazol, conform internationale richtlijnen (Cohen 2010).

B. Bij een ernstige infectie. Zoals blijkt uit de beperkte literatuur is vancomycine effectiever bij patiënten met een ernstige infectie (Zar 2007; Somir 2010). Bij een ernstige infectie kan overgegaan worden naar vancomycine of teicoplanin. Echter, beiden worden niet opgenomen uit de darm, daarom wordt bij verminderde peristaltiek intraveneus metronidazol geadviseerd, eventueel in combinatie met enterale glycopeptiden (SWAB richtlijn) (Aslam 2005).

C. Bij een (tweede) recidief. De kans op een recidief verschilt nauwelijks tussen metronidazol en glycopeptiden. Ook kan een eerste recidief effectief behandeld worden met het middel van eerste keuze (9). Bij een tweede recidief wordt in de praktijk veelal overgestapt naar een andere behandeling, aangezien elk recidief met complicaties gepaard kan gaan. Er zijn beperkte aanwijzingen uit niet-gecontroleerd onderzoek dat vancomycine in een afbouwschema effectiever is in het voorkomen van een volgend recidief dan metronidazol (Aslam 2005; McFarland 2002). De SWAB-richtlijn adviseert fidaxomicine of vancomycine in een afbouwschema bij een tweede of multipel recidief. Een fecestransplantatie dient overwogen te worden.

D. Resistentie. Uit de literatuur blijkt dat resistentie tegen metronidazol zeer sporadisch voorkomt (Babut 2007; Johnson 2000; Hecht 2007; Musher 2005). De klinische consequenties hiervan zijn niet duidelijk.

Conclusie: Resistentie van *C. difficile* is vrijwel nooit een reden om de infectie met glycopeptiden te behandelen. Glycopeptiden komen in aanmerking bij patiënten met een ernstige *C. difficile*-infectie, bij een tweede (of later) recidief, en bij patiënten die tijdens een behandeling met metronidazol niet lijken te reageren na 2-3 dagen.

3. Bij het oplopen van een infectie met *Clostridium difficile* zijn leeftijd, geslacht, antibioticagebruik en het werken met vee belangrijke risicofactoren. In welke mate zijn deze factoren risico verhogend voor een individu, en hoe is de bijdrage per factor aan deze risicovergroting? Zijn er nog aanvullende factoren bekend die risico verhogend zijn en hoe groot is in dat geval de invloed hiervan?

Dubberke et al. hebben in 2003 een grote retrospectieve cohortstudie uitgevoerd onder gehospitaliseerde patiënten in de VS (Dubberke 2007). Uit de multivariate analyse blijkt dat de volgende factoren significant en onafhankelijk risicoverhogend zijn voor het krijgen van een infectie met *C. difficile*: eerdere ziekenhuisopname, leeftijd >60 jaar, het gebruik van antibiotica, 'CDAD pressure' (de blootstelling van een patiënt aan andere patiënten met CDAD, ofwel 'infectiedruk'), leukemie/lymfoom en kunstmatige beademing. Opvallend is dat antibiotica bij een gebruik korter dan 7 dagen geen significante risicofactor is, met uitzondering van vierde generatie cefalosporines (OR 2.2). Bij gebruik langer dan 7 dagen zijn de volgende antibiotica onafhankelijke risicofactoren: 1e, 3e en 4e generatie cefalosporines (OR respectievelijk 5.6, 9.2 en 3.3), fluoroquinolonen (OR 2.5), en intraveneus vancomycine (OR 1.9). Clindamycine bleek in het multivariate model geen significante risicofactor. Histamine-2 blokkers en protonpompremmers bleken beiden onafhankelijke risicofactoren voor een infectie met *C. difficile*, ook bij patiënten zonder antibiotica. De belangrijkste risicofactoren volgens dit onderzoek zijn, op volgorde van relevantie: (1) Derde generatie cefalosporines (gebruik >7 dagen, OR 9.2), (2) Eerste generatie cefalosporines (gebruik >7 dagen, OR 5.6), (3) 'CDAD pressure', en (4) een leeftijd > 74 jaar (Dubberke 2007).

Uit een groot prospectief patiëntcontroleonderzoek, uitgevoerd tijdens een uitbraak in Canada, blijkt ook dat het gebruik van cefalosporines, in het bijzonder tweede generatie cefalosporines (OR 6.0), de belangrijkste risicofactor is (Loo 2005). Daarnaast zijn in de multivariate analyse de eerste en derde generatie cefalosporines (OR 2.4 resp. 3.0) en fluoroquinolonen (OR 3.9) significant. De overige antibiotica (inclusief clindamycine) blijken, evenals maagzuurremmers, geen significante onafhankelijke risicofactoren in dit onderzoek. De stam die deze uitbraak veroorzaakt, was gevoelig voor clindamycine en resistent tegen fluoroquinolonen, wat de risicofactoren mogelijk heeft beïnvloed (Loo 2005).

MacFarland et al. hebben een retrospectief patiëntcontroleonderzoek uitgevoerd in een ziekenhuis voor veteranen, met zowel klinische als poliklinische patiënten, met een eerste infectie maar ook met een recidief (MacFarland 2007). De controles hadden ook diarree, maar geen *C. difficile* infectie. Bij de infecties welke als community-acquired beschouwd werden, ging het om relatief gezondere patiënten, met minder medicatie en met minder antibioticagebruik voorafgaand aan de infectie. Uit de multivariate analyse kwamen de volgende risicofactoren naar voren (op volgorde van relevantie): (1) clindamycine-gebruik (OR 29.9), (2) penicilline-gebruik (OR 4.1), (3) colon-aandoening (OR 2.8), (4) aantal gebruikte antibiotica (OR 1.4), (5) aantal voorafgaande ziekenhuisopnamen (OR 1.3), (6) aantal aandoeningen (comorbiditeit) (OR 1.3) (MacFarland 2007).

Een prospectief cohortonderzoek uit 1991 is uitgevoerd in een academische ziekenhuispopulatie, waarvan een groot deel op de intensive care verbleef, bij dragers met en zonder klachten

(Samore 1994). De community-associated dragers van *C. difficile* (7%), hadden minder vaak antibiotica gebruikt voorafgaand aan de infectie, vaker nierinsufficiëntie, en vaker een ziekenhuisopname in het voorafgaande jaar. In de multivariate analyse komen levertransplantatie (RR 4.2) en opname op de vasculaire afdeling (RR 2.3) als onafhankelijke risicofactoren naar voren. Deze opvallende resultaten zijn mogelijk te verklaren door de korte studieperiode op een beperkt aantal afdelingen, waardoor een afdeling-gerelateerd probleem ten onrechte als een risicofactor geïnterpreteerd kan worden. Op de afdeling gastro-enterologie worden voornamelijk levertransplantaties uitgevoerd. Mogelijk geeft de transplantatie niet het risico, maar het verblijf op de afdeling. Antibioticagebruik en het hebben van een kamergenoot met *C. difficile* bleken overigens geen significante risicofactoren (Samore 1994).

Een Nederlandse studie uit 2011 onder 93 patiënten met een *C. difficile*-infectie geeft drie significante risicofactoren weer: het gebruik van derde generatie cefalosporines, ziekenhuisopname, en opname op de intensive care (Hensgens 2011).

Uit de diverse studies blijkt dat patiënten met een community associated infectie met *C. difficile* doorgaans jonger en gezonder zijn, en daarnaast minder vaak antibiotica gebruiken (Bauer 2009; Wilcox 2008). Belangrijke risicofactoren voor een community associated infectie met *C. difficile* zijn het gebruik van antibiotica, een ziekenhuisopname in de afgelopen 6 maanden, en contact met kinderen jonger dan 2 jaar (Wilcox 2008). De relatie met het houden van vee of beroepsmatig contact met vee is voor zover bekend niet onderzocht. Het gebruik van maagzuurremmers als risicofactor is bij community acquired *C. difficile*-infecties onderhevig aan discussie (Wilcox 2008, Dial 2005, Dial 2006, Lowe 2006).

Voor het krijgen van een recidief worden in de beperkte beschikbare literatuur de volgende risicofactoren genoemd: leeftijd, duur van de ziekenhuisopname, nierinsufficiëntie en een initiële community-associated infectie (Pepin 2006; Do 1998). Geslacht en antibioticagebruik blijken geen significante risicofactoren voor een recidief.

Het effect van maagzuurremmers is lange tijd punt van discussie geweest. Recent is in een review gesteld dat er voldoende bewijs is voor een verhoogd risico bij het gebruik van maagzuurremmers (Tschudin-Sutter 2012).

Conclusie: Antibioticagebruik, in het bijzonder van cefalosporines, wordt nog steeds beschouwd als de belangrijkste risicofactor voor het krijgen van een infectie met *C. difficile*. Naast cefalosporines zijn ook het gebruik van quinolonen en clindamycine significante risicofactoren. De OR per antibioticum varieert in de diverse studies. De gevoeligheid van bepaalde stammen kent geografische verschillen en verandert door de jaren heen, waardoor ook het risicoprofiel van antibiotica verschilt per regio en in de tijd. Hierdoor is in Nederland clindamycinegebruik een minder belangrijke risicofactor geworden, terwijl fluoroquinolonengebruik juist belangrijker is geworden (Bauer 2011; Warren 2011).

Naast antibioticagebruik komen risicofactoren als leeftijd, ziekenhuisopname, *C. difficile*-infecties bij kamergenoten, en comorbiditeit naar voren in de verschillende onderzoeken (Dubberke 2007; Loo 2005; McFarland 2007; Samore 1994; Vesta 2005; Yip 2001). Geslacht is geen significante risicofactor (Dubberke 2007; Loo 2005; Samore 1994). Bij patiënten met community associated infecties met *C. difficile* komen de bekende risicofactoren minder vaak voor dan in de ziekenhuisopname.

4. Is *C. difficile* een zoonose en wat betekent dit in relatie met infectiepreventie?

Een zoonose is gedefinieerd als 'een infectieziekte die kan worden overgedragen van dieren op mensen'. In het ziekenhuis vindt overdracht van *C. difficile* uitsluitend van mens tot mens plaats. Bij de community acquired *C. difficile* kan een dier de bron zijn. *C. difficile* komt vaak voor bij kalveren en biggen (Goorhuis 2008; Keel 2007). Van verschillende ribotypen (ribotypen 078, 027 en 017) is bekend dat ze vaak voorkomen bij kalveren en biggen, en dat ze genetisch verwant zijn aan de stammen die bij mensen voorkomen (Debast 2009 - Hensgens 2012). Hieruit kan men afleiden dat er overdracht is tussen mens en dier. Het overgrote deel van de *C. difficile*-patiënten wordt voor zover bekend besmet in ziekenhuizen en instellingen, waardoor er nog geen infectiepreventieve maatregelen richting dieren nodig zijn.

Zowel community associated *C. difficile* als het met vee geassocieerde ribotype 078 nemen in prevalentie toe (Notermans 2008). Hiermee wordt een eventuele zoonotische overdracht van

belang, en wordt de vraag om onderzoek en eventuele maatregelen in de veehouderij waarschijnlijk groter.

Conclusie: Het is zeer waarschijnlijk, echter niet bewezen, dat *C. difficile* van dier naar mens overdraagbaar is. Op dit moment lijkt het aandeel van infecties met een dierlijke bron dusdanig klein dat dit geen gevolgen heeft voor de infectiepreventie.

5. Is hypochloriet effectief voor de desinfectie van kamer en meubels en in welke concentratie?

C. difficile kan een hardnekkig probleem vormen aangezien de sporen die de bacterie vormt resistent zijn voor de meeste schoonmaakmiddelen en vele desinfectantia. Voor een goede eliminatie van *C. difficile* is bij voorkeur een middel nodig dat zowel de vegetatieve vorm als de sporen effectief doodt. Hypochloriet is een dergelijk middel, echter de mate van afdoding van sporen is afhankelijk van de gebruikte concentratie, de zuurgraad, de duur van inwerking en de aanwezigheid van biologisch materiaal ('vuil') (Fawley 2007; Kaatz 1988; Perez 2005; Oie 2011; Ungurs 2011). Vanaf 1.000 ppm chloor wordt in de literatuur een afdoding van meer dan 95% beschreven (42;46). Er zijn echter ook publicaties waarbij een hoge concentratie van bijvoorbeeld 5.000 ppm niet voldoende werkzaam is (Barbut 2009; Omidbakhsh 2010). Aangezuurde chloor-oplossingen zijn meer sporicide, maar ook minder stabiel (Perez 2005). De werking van hypochloriet vermindert sterk wanneer de oppervlakten niet goed zijn schoongemaakt (Fraise 2011). Bij hoge concentraties, bijvoorbeeld 5.000 ppm (0,5%), kan er gevaar voor de gebruiker ontstaan, omdat er tijdens het gebruik chloordampen ontstaan die de slijmvliezen kunnen irriteren. Daarnaast kan chloor corrosief werken op metalen voorwerpen en oppervlakten.

De Werkgroep Hygiëne en Infectiepreventie (WIP) adviseert momenteel geen desinfectie maar degelijke reiniging, aangezien chloor in een werkbare concentratie de sporen niet voldoende doodt. Indien men toch wil desinfecteren, dan is een concentratie van 250 ppm (0,025%) voldoende voor het doden van de vegetatieve vorm van *C. difficile*. Volgens de studie van Fawley is namelijk een hoeveelheid van 86-250 ppm al voldoende om de vegetatieve vorm van *C. difficile* te doden, hoewel dit in vitro experiment in een emulsie is uitgevoerd (Fawley 2007).

De HPA van Groot Brittannië echter adviseert desinfectie met 1.000 ppm (0,1%) chloor (http://www.hpa.org.uk/webc/HPAwebFile/HPAweb_C/1232006607827). Volgens de SHEA-IDSA richtlijn 2010 is het gebruik van hypochloriet 1.000 ppm (of een ander sporicide middel) effectief voor desinfectie (Cohen 2010). Het CDC verwijst naar de SHEA-IDSA-richtlijn.

Een eenduidig antwoord is niet te geven. Hoe hoger de concentratie, hoe beter de desinfectie, maar hoe meer last voor de gebruiker. De onderzoeken zijn lastig vergelijkbaar, aangezien er verschillende stammen en settings in voorkomen, en verschillende uitkomstmaten worden gebruikt. Een experiment met emulsies is niet vergelijkbaar met de situatie in de praktijk, waarin oppervlakten gedesinfecteerd dienen te worden. Daarnaast wordt soms de concentratie in ppm weergegeven, soms in mg/L en soms in een titer bijvoorbeeld 1:10, wat onderlinge vergelijking bemoeilijkt. Volgens de huidige expert opinion dient 1.000 ppm chloor gebruikt te worden voor desinfectie. Dit is gebaseerd op internationale richtlijnen.

Conclusie: Hypochloriet is effectief voor de desinfectie van kamer en meubels. Voor het doden van de vegetatieve vorm van *C. difficile* is een concentratie van 250 ppm hypochloriet waarschijnlijk voldoende. Voor het doden van de sporen wordt internationaal een concentratie van 1.000 ppm hypochloriet geadviseerd. De afdoding van sporen door hypochloriet 1.000 ppm is echter niet volledig.

6. Zijn er alternatieve desinfectiemethoden bekend en wat zijn daarvan de voor- en nadelen?

Hypochloriet is goed verkrijgbaar en goedkoop. De nadelen van hypochloriet zijn (1) irritatie van de slijmvliezen door chloordamp, (2) corrosie van metalen objecten/oppervlakten (3), onvoldoende effectief wanneer niet goed is schoongemaakt en (4) het is niet milieuvriendelijk (Fraise 2011). Er is daarom behoefte aan een alternatief, dat even effectief is in het doden van (de sporen van) *C. difficile*. Volgens de SHEA-IDSA-richtlijn kunnen andere middelen dan

hypochloriet worden gebruikt, maar er worden in de richtlijn geen aanwijzingen gegeven over welke middelen dan geschikt zouden zijn.

Als alternatieven voor chloor worden onder andere waterstofperoxide, 'peroxygens' (perazijnzuren in combinatie met waterstofperoxide), quaternaire ammonia en (glutaar)aldehyden beschreven. Soms worden combinaties van deze stoffen gebruikt in commerciële producten. Ook chloorhexidine, isopropanol en UV-straling worden genoemd in de literatuur. De verschillende onderzoeken zijn lastig vergelijkbaar, aangezien het verschillende stammen en settings betreft, en er verschillende uitkomstmaten worden gebruikt. Daarnaast bestaan de commerciële producten die worden getest vaak uit een combinatie van verschillende werkzame stoffen, wat interpretatie moeilijk maakt. Recent zijn Europese standaarden voor het testen van sporicide middelen opgesteld (Humphreys 2011; Wilcox 2011).

Het gebruik van middelen anders dan chloor, kan de bacterie juist aanzetten tot sporenvorming (Wilcox 2000). In het bijzonder van Quaternaire ammoniumverbindingen in combinatie met een gewoon schoonmaakmiddel is dit bekend (Fraise 2011). Quaternair ammonium is in vitro nauwelijks sporicide, en is in situ minder effectief dan hypochloriet (Fraise 2011; Vonberg 2008; Mayfield 2000).

Glutaaraldehyden zijn sporicide, maar doorgaans zijn voor alkylerende middelen als glutaaraldehyde langere inwerktijden nodig dan voor oxiderende middelen zoals chloor, waterstofperoxide of perazijnzuur (Wullt 2003; Maillard 2011). De werkzaamheid neemt toe bij hogere temperatuur en in een alkalisch milieu (Maillard 2011). Glutaaraldehyde wordt afgeraden voor desinfectie vanwege de hoge mate van toxiciteit voor het personeel, en de schadelijke effecten op het milieu (Vonberg 2008; Wullt 2003; Vizcaino-Alcaide 2003).

Waterstofperoxide kan op bijna alle materialen gebruikt worden, is niet toxisch en is biologisch afbreekbaar (Barbut 2009; Davies 2011). In de literatuur zijn wisselende resultaten beschreven met vloeibare waterstofperoxide (Fawley 2007; Perez 2005; Alfa 2010). Ook de benodigde inwerktijd varieert in de literatuur (Perez 2005; Alfa 2010). Het voordeel van waterstofperoxide is dat het ook werkzaam is op relatief vuile oppervlakken. Verneveling van waterstofperoxide blijkt zeer effectief te zijn, maar ook complex en duur, en daarmee alleen geschikt voor toepassing in ziekenhuizen (Vonberg 2008).

Naast waterstofperoxide zijn er enkele andere oxiderende verbindingen die gebruikt worden als desinfectans, 'peroxygens' genaamd. Deze bestaan meestal uit een combinatie van peroxyazijnzuur (ook wel perazijnzuur genoemd) en waterstofperoxide. Uit enkele onderzoeken blijkt dat peroxygens in vitro effectiever zijn dan chloor (Dawson 2011; Wullt 2003; Jonhston 2005; Block 2004). In de studie van Dawson is naast peroxyazijnzuur ook peroxymonosulfaat onderzocht, dit middel bleek inferieur aan peroxyazijnzuur, met een sporiciditeit vergelijkbaar met 500 ppm chloor (Dawson 2011). Vooral op roestvrijstalen oppervlakken presteert een combinatie van peroxyazijnzuur en waterstofperoxide beter dan 1.000 ppm chloor (Block 2004). Verder onderzoek moet uitwijzen of deze middelen in de praktijk geschikt zijn voor de bestrijding van *Clostridium difficile*.

Isopropanol en UV-straling blijken niet effectief voor het doden van sporen (Wullt 2003; Davies 2011). Ozon is beperkt onderzocht. Het is goedkoop, maar toxisch en kan potentieel metalen aantasten (Davies 2011).

Conclusie: Waterstofperoxide en andere oxiderende middelen als perazijnzuur in combinatie met waterstofperoxide zijn mogelijk een goed alternatief voor hypochloriet. Verder onderzoek moet uitwijzen of deze middelen hypochloriet kunnen vervangen bij de desinfectie na besmetting met *C. difficile*.

Literatuurlijst

- Alfa MJ, Lo E, Wald A, Dueck C, DeGagne P, Harding GK et al. Improved eradication of *Clostridium difficile* spores from toilets of hospitalized patients using an accelerated hydrogen peroxide as the cleaning agent. *BMC Infect Dis* 2010;10:268.
- Al-Nassir WN, Sethi AK, Li Y, Pultz MJ, Riggs MM, Donskey CJ. Both oral metronidazole and oral vancomycin promote persistent overgrowth of vancomycin-resistant enterococci during treatment of *Clostridium difficile*-associated disease. *Antimicrob Agents Chemother* 2008 July;52(7):2403-6.

- Aslam S, Hamill RJ, Musher DM. Treatment of Clostridium difficile-associated disease: old therapies and new strategies. *Lancet Infect Dis* 2005 September;5(9):549-57.
- Barbut F, Mastrantonio P, Delmee M, Brazier J, Kuijper E, Poxton I et al. Prospective study of Clostridium difficile infections in Europe with phenotypic and genotypic characterisation of the isolates. *Clin Microbiol Infect* 2007 November;13(11):1048-57.
- Barbut F, Menuet D, Verachten M, Girou E. Comparison of the efficacy of a hydrogen peroxide dry-mist disinfection system and sodium hypochlorite solution for eradication of Clostridium difficile spores. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2009 June;30(6):507-14.
- Bauer MP, Kuijper EJ, van Dissel JT. Clostridium difficile-infection: new insights. Clostridium difficile-infectie: nieuwe ontwikkelingen. *Tijdschrift voor Infectieziekten* 6[3], 97-104. 2011. Ariez MP.
- 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 December;15(12):1087-92.
- Block C. The effect of Perasafe and sodium dichloroisocyanurate (NaDCC) against spores of Clostridium difficile and Bacillus atrophaeus on stainless steel and polyvinyl chloride surfaces. *J Hosp Infect* 2004 June;57(2):144-8.
- Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, Kelly CP, Loo VG, McDonald LC et al. 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). *Infect Control Hosp Epidemiol* 2010 May;31(5):431-55.
- Davies A, Pottage T, Bennett A, Walker J. Gaseous and air decontamination technologies for Clostridium difficile in the healthcare environment. *J Hosp Infect* 2011 March;77(3):199-203.
- Dawson LF, Valiente E, Donahue EH, Birchenough G, Wren BW. Hypervirulent Clostridium difficile PCR-ribotypes exhibit resistance to widely used disinfectants. *PLoS One* 2011;6(10):e25754.
- 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 February;11(2):505-11.
- Dial S, Delaney JA, Barkun AN, Suissa S, Dial S, Delaney JAC et al. Use of gastric acid-suppressive agents and the risk of community-acquired Clostridium difficile-associated disease. *JAMA* 2005 December 21;294(23):2989-95.
- Dial S, Delaney JA, Schneider V, Suissa S. Proton pump inhibitor use and risk of community-acquired Clostridium difficile-associated disease defined by prescription for oral vancomycin therapy. *CMAJ* 2006 September 26;175(7):745-8.
- Do AN, Fridkin SK, Yechouron A, Banerjee SN, Killgore GE, Bourgault AM et al. Risk factors for early recurrent Clostridium difficile-associated diarrhea. *Clin Infect Dis* 1998 April;26(4):954-9.
- Drekonja DM, Butler M, MacDonald R, Bliss D, Filice GA, Rector TS et al. Comparative effectiveness of Clostridium difficile treatments: a systematic review. *Ann Intern Med* 2011 December 20;155(12):839-47.
- Dubberke ER, Reske KA, Yan Y, Olsen MA, McDonald LC, Fraser VJ et al. Clostridium difficile--associated disease in a setting of endemicity: identification of novel risk factors. *Clin Infect Dis* 2007 December 15;45(12):1543-9.
- Fawley WN, Underwood S, Freeman J, Baines SD, Saxton K, Stephenson K et al. Efficacy of hospital cleaning agents and germicides against epidemic Clostridium difficile strains. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2007 August;28(8):920-5.
- Fraise A. Currently available sporicides for use in healthcare, and their limitations. *J Hosp Infect* 2011 March;77(3):210-2.
- Goorhuis A, Bakker D, Corver J, Debast SB, Harmanus C, Notermans DW et al. Emergence of Clostridium difficile infection due to a new hypervirulent strain, polymerase chain reaction ribotype 078. *Clin Infect Dis* 2008 November 1;47(9):1162-70.
- Goorhuis A, Van der Kooij T, Vaessen N, Dekker FW, Van den Berg R, Harmanus C et al. Spread and epidemiology of Clostridium difficile polymerase chain reaction ribotype 027/toxinotype III in The Netherlands. *Clin Infect Dis* 2007 September 15;45(6):695-703.
- Hecht DW, Galang MA, Sambol SP, Osmolski JR, Johnson S, Gerding DN. In vitro activities of 15 antimicrobial agents against 110 toxigenic clostridium difficile clinical isolates collected from 1983 to 2004. *Antimicrob Agents Chemother* 2007 August;51(8):2716-9.
- Hensgens MP, Goorhuis A, van Kinschot CM, Crobach MJ, Harmanus C, Kuijper EJ. Clostridium difficile infection in an endemic setting in the Netherlands. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2011 April;30(4):587-93.
- Hensgens MP, Keessen EC, Squire MM, Riley TV, Koene MG, de BE et al. Clostridium difficile infection in the community: a zoonotic disease? *Clin Microbiol Infect* 2012 July;18(7):635-45.
- Humphreys PN. Testing standards for sporicides. *J Hosp Infect* 2011 March;77(3):193-8.
- Johnson S, Sanchez JL, Gerding DN. Metronidazole resistance in Clostridium difficile. *Clin Infect Dis* 2000 August;31(2):625-6.

- Johnston MD, Lawson S, Otter JA. Evaluation of hydrogen peroxide vapour as a method for the decontamination of surfaces contaminated with *Clostridium botulinum* spores. *J Microbiol Methods* 2005 March; 60(3): 403-11.
- Kaatz GW, Gitlin SD, Schaberg DR, Wilson KH, Kauffman CA, Seo SM et al. Acquisition of *Clostridium difficile* from the hospital environment. *Am J Epidemiol* 1988 June; 127(6): 1289-94.
- 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 June; 45(6): 1963-4.
- Kuijper EJ, Barbut F, Brazier JS, Kleinkauf N, Eckmanns T, Lambert ML et al. Update of *Clostridium difficile* infection due to PCR ribotype 027 in Europe, 2008. *Euro Surveill* 2008 July 31; 13(31).
- Loo VG, Poirier L, Miller MA, Oughton M, Libman MD, Michaud S et al. A predominantly clonal multi-institutional outbreak of *Clostridium difficile*-associated diarrhea with high morbidity and mortality. [Erratum appears in *N Engl J Med*. 2006 May 18; 354(20): 2200]. *N Engl J Med* 2005 December 8; 353(23): 2442-9.
- Lowe DO, Mamdani MM, Kopp A, Low DE, Juurlink DN, Lowe DO et al. Proton pump inhibitors and hospitalization for *Clostridium difficile*-associated disease: a population-based study. *Clin Infect Dis* 2006 November 15; 43(10): 1272-6.
- Maillard JY. Innate resistance to sporicides and potential failure to decontaminate. *J Hosp Infect* 2011 March; 77(3): 204-9.
- Mayfield JL, Leet T, Miller J, Mundy LM. Environmental control to reduce transmission of *Clostridium difficile*. *Clin Infect Dis* 2000 October; 31(4): 995-1000.
- McFarland LV, Clarridge JE, Beneda HW, Raugi GJ, McFarland LV, Clarridge JE et al. Fluoroquinolone use and risk factors for *Clostridium difficile*-associated disease within a Veterans Administration health care system. *Clin Infect Dis* 2007 November 1; 45(9): 1141-51.
- McFarland LV, Elmer GW, Surawicz CM. Breaking the cycle: treatment strategies for 163 cases of recurrent *Clostridium difficile* disease. *Am J Gastroenterol* 2002 July; 97(7): 1769-75.
- 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 June 1; 40(11): 1586-90.
- Norman KN, Scott HM, Harvey RB, Norby B, Hume ME, Andrews K. Prevalence and genotypic characteristics of *Clostridium difficile* in a closed and integrated human and swine population. *Appl Environ Microbiol* 2011 August 15; 77(16): 5755-60.
- Notermans DW, van der Kooi TI, Goorhuis A, Debast SB, van Benthem BH, Kuijper EJ et al. [Epidemiology of *Clostridium difficile* PCR ribotype 027 in the Netherlands 2005-present and the emergence of other subtypes]. [Dutch]. *Ned Tijdschr Geneesk* 2008 August 30; 152(35): 1937-40.
- Nyc O, Pituch H, Matejkova J, Obuch-Woszczatynski P, Kuijper EJ, Nyc O et al. *Clostridium difficile* PCR ribotype 176 in the Czech Republic and Poland. *Lancet* 2011 April 23; 377(9775): 1407.
- Oie S, Obayashi A, Yamasaki H, Furukawa H, Kenri T, Takahashi M et al. Disinfection methods for spores of *Bacillus atrophaeus*, *B. anthracis*, *Clostridium tetani*, *C. botulinum* and *C. difficile*. *Biol Pharm Bull* 2011; 34(8): 1325-9.
- Omidbakhsh N. Evaluation of sporicidal activities of selected environmental surface disinfectants: carrier tests with the spores of *Clostridium difficile* and its surrogates. *Am J Infect Control* 2010 November; 38(9): 718-22.
- Pepin J, Routhier S, Gagnon S, Brazeau I, Pepin J, Routhier S et al. Management and outcomes of a first recurrence of *Clostridium difficile*-associated disease in Quebec, Canada. *Clin Infect Dis* 2006 March 15; 42(6): 758-64.
- Perez J, Springthorpe VS, Sattar SA, Perez J, Springthorpe VS, Sattar SA. Activity of selected oxidizing microbicides against the spores of *Clostridium difficile*: relevance to environmental control. *Am J Infect Control* 2005 August; 33(6): 320-5.
- Rupnik M, Rupnik M. Is *Clostridium difficile*-associated infection a potentially zoonotic and foodborne disease? *Clin Microbiol Infect* 2007 May; 13(5): 457-9.
- Samore MH, DeGirolami PC, Tlucko A, Lichtenberg DA, Melvin ZA, Karchmer AW. *Clostridium difficile* colonization and diarrhea at a tertiary care hospital. *Clin Infect Dis* 1994 February; 18(2): 181-7.
- Simor AE. Diagnosis, management, and prevention of *Clostridium difficile* infection in long-term care facilities: a review. *J Am Geriatr Soc* 2010 August; 58(8): 1556-64.
- Teasley DG, Gerding DN, Olson MM, Peterson LR, Gebhard RL, Schwartz MJ et al. Prospective randomised trial of metronidazole versus vancomycin for *Clostridium-difficile*-associated diarrhoea and colitis. *Lancet* 1983 November 5; 2(8358): 1043-6.
- Tschudin-Sutter S, Widmer AF, Perl TM. *Clostridium difficile*: novel insights on an incessantly challenging disease. *Curr Opin Infect Dis* 2012 August; 25(4): 405-11.

- Ungurs M, Wand M, Vassey M, O'Brien S, Dixon D, Walker J et al. The effectiveness of sodium dichloroisocyanurate treatments against *Clostridium difficile* spores contaminating stainless steel. *Am J Infect Control* 2011 April; 39(3):199-205.
- Vesta KS, Wells PG, Gentry CA, Stipek WJ, Vesta KS, Wells PG et al. Specific risk factors for *Clostridium difficile*-associated diarrhea: a prospective, multicenter, case control evaluation. *Am J Infect Control* 2005 October; 33(8):469-72.
- Vizcaino-Alcaide MJ, Herruzo-Cabrera R, Fernandez-Acenero MJ. Comparison of the disinfectant efficacy of Perasafe and 2% glutaraldehyde in in vitro tests. *J Hosp Infect* 2003 February; 53(2):124-8.
- Vonberg RP, Kuijper EJ, Wilcox MH, Barbut F, Tull P, Gastmeier P et al. Infection control measures to limit the spread of *Clostridium difficile*. *Clin Microbiol Infect* 2008 May; 14 Suppl 5:2-20.
- 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 September 24; 366(9491):1079-84.
- Warren CA, Guerrant RL, Warren CA, Guerrant RL. Pathogenic *C difficile* is here (and everywhere) to stay. *Lancet* 2011 January 1; 377(9759):8-9.
- Wilcox MH, Fawley WN. Hospital disinfectants and spore formation by *Clostridium difficile*. *Lancet* 2000 October 14; 356(9238):1324.
- Wilcox MH, Fraise AP, Bradley CR, Walker J, Finch RG. Sporicides for *Clostridium difficile*: the devil is in the detail. *J Hosp Infect* 2011 March; 77(3):187-8.
- Wilcox MH, Mooney L, Bendall R, Settle CD, Fawley WN. A case-control study of community-associated *Clostridium difficile* infection. *J Antimicrob Chemother* 2008 August; 62(2):388-96.
- Wullt M, Odenholt I, Walder M. Activity of three disinfectants and acidified nitrite against *Clostridium difficile* spores. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2003 October; 24(10):765-8.
- Yip C, Loeb M, Salama S, Moss L, Olde J. Quinolone use as a risk factor for nosocomial *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2001 September; 22(9):572-5.
- Zar FA, Bakkanagari SR, Moorthi KM, Davis MB, Zar FA, Bakkanagari SR et al. A comparison of vancomycin and metronidazole for the treatment of *Clostridium difficile*-associated diarrhea, stratified by disease severity. *Clin Infect Dis* 2007 August 1; 45(3):302-7.