



WETENSCHAPPELIJK INSTITUUT
VOLKSGEZONDHEID
INSTITUT SCIENTIFIQUE
DE SANTÉ PUBLIQUE

Epidémiologie des infections à *Clostridium difficile* en Belgique Rapport 2014

Données de surveillance 2007 - 2013
Résumés Hospitaliers Minima 1999 - 2011
Registres des décès 1998 - 2010

Fiona Neely, Boudewijn Catry, Marie-Laurence Lambert

Division opérationnelle Santé Publique et Surveillance

Contact : mllambert@wiv-isp.be

Rue Juliette Wytman 14

1050 Bruxelles | Belgique

www.wiv-isp.be

Pour le laboratoire de référence :

M. Delmée, V. Avesani, E. Ngyuvula, L. Muytjens, J. Van Broeck.

Cliniques Universitaires Saint Luc

1200 Bruxelles | Belgique



No de référence interne: PHS-2014-024

N° ISSN – version online : 2034-4562



Résumé

Les infections à *Clostridium difficile* (ICD) sont une cause majeure de diarrhée et de colite pseudomembraneuse dans les institutions de soin aigus et chroniques. Dans la dernière décennie, une augmentation de l'incidence a été rapportée dans divers pays du monde. Cette augmentation a été attribuée à de multiples facteurs: une augmentation de l'utilisation de certains antibiotiques, une augmentation de la population présentant des facteurs de risque (les personnes âgées), et l'émergence de souches hypervirulentes.

Ce rapport fait la synthèse des différentes sources de données disponibles quant à l'épidémiologie des ICD en Belgique: données de la surveillance nationale dans les hôpitaux, y compris les données du laboratoire de référence (2007-2013), les données des résumés hospitaliers minima (RHM 1999 - 2011), et les données des registres des décès (1998-2010). Ces différentes sources confirment une augmentation importante de la morbidité et de la mortalité liées aux ICD à partir de 2002-2003. La mortalité a atteint un pic en 2004 (avec une augmentation particulièrement importante à Bruxelles), et a fortement diminué depuis. En 2010, le taux brut de mortalité spécifique (décès attribués à une entérocolite à *Clostridium difficile*) était de 0.9 /100.000 habitants. Ce taux était le plus élevé à Bruxelles et le plus bas en Wallonie.

Le pic d'incidence observé en 2008 s'est stabilisé à un niveau élevé. En 2013, l'incidence moyenne des ICD pour 105 hôpitaux ayant rapporté des données pendant 12 mois était de 1.65 épisodes / 1000 admissions, le taux le plus élevé depuis 2009 ; l'incidence moyenne des ICD acquises à l'hôpital (c'est-à-dire, avec début des symptômes 2 jours ou plus après admission à l'hôpital déclarant) était de 1.0 /1000 admissions. (A titre de comparaison, l'incidence des infections nosocomiales à MRSA - échantillons cliniques - était de 1.1/1000 admissions en 2012). L'incidence des ICD acquises à l'hôpital en 2013 était la plus élevée à Bruxelles et la plus basse en Flandre.

Les dernières données de surveillance suggèrent une légère augmentation de la proportion des épisodes avec début des symptômes dans la communauté, ce qui a été rapporté dans d'autres pays. Les autres caractéristiques des cas semblent stables depuis le début de la surveillance (âge, sexe, proportion des cas supposés provenir d'institutions de soins chroniques).

L'incidence des ICD est saisonnière, avec un pic en mars-avril. Il existe une grande variabilité d'incidence entre les hôpitaux, ce qui suggère un important potentiel de prévention.

Le typage de 585 souches de *Clostridium difficile* provenant de 103 hôpitaux différents a identifié 133 ribotypes différents, dont 72 n'ont été isolés qu'une seule fois, et 60 n'avaient jamais été isolés en Belgique auparavant. Ceci illustre la multiplicité des sources de transmission. Les ribotypes les plus fréquemment isolés étaient les ribotypes O14 (8% du total des souches typées) et O20 (7%). La proportion des hôpitaux avec une souche hypervirulente O27 est passée de 34% en 2009 à 15% en 2013. Une diminution de la prévalence du ribotype O27 a été rapportée également au Royaume Uni et aux Pays-Bas.

Les comparaisons internationales situent l'incidence des ICD en Belgique dans la moyenne des autres pays européens. Cette incidence est plus basse que l'incidence des ICD aux Etats-Unis. Les dernières données de surveillance semblent indiquer que l'incidence des ICD est à nouveau en augmentation en Europe et en Belgique.

**Acronymes**

ICD	Infection à <i>Clostridium difficile</i>
HA-ICD	Infection à <i>Clostridium difficile</i> acquise à l'hôpital (par définition: début de la diarrhée 2 jours ou plus après admission à l'hôpital déclarant)
ICD-10	International Classification of Diseases/ classification internationale des maladies, 10e révision
ICD-9-CM	International Classification of Diseases, 9th Revision, Clinical Modification / classification international des maladies, 9e révision
NRC-CD	National reference centre (laboratory) – <i>Clostridium difficile</i> . Laboratoire national de référence.
RHM	Résumés Hospitaliers Minima
UE	Union Européenne
EU	Etats-Unis



Epidémiologie des infections à *Clostridium difficile* en Belgique - Rapport 2014

Table des matières

1	Introduction	7
1.1	<i>Introduction générale</i>	7
1.2	<i>Objectifs de ce rapport</i>	8
2	Méthodes	9
2.1	<i>Données de surveillance</i>	9
2.2	<i>Résumés Hospitaliers Minima</i>	9
2.3	<i>Données du laboratoire de référence</i>	10
2.4	<i>Registres des décès</i>	10
3	Résultats	11
3.1	<i>Données de surveillance</i>	11
3.1.1	Participation des hôpitaux, caractéristiques des épisodes et des patients.	11
3.1.2	Incidences annuelles	13
3.1.3	Variation saisonnière	17
3.1.4	Description des épisodes - 2013	18
3.2	<i>Données de séjours hospitaliers (RHM)</i>	19
3.3	<i>Surveillance microbiologique – données du laboratoire de référence</i>	21
3.3.1	Evolution des ribotypes	21
3.3.2	Lien des données de laboratoire avec les données de surveillance épidémiologique	22
3.4	<i>Données des registres de décès</i>	23
3.5	<i>Comparaisons internationales</i>	25
4	Discussion et conclusions	28
4.1	<i>Discussion</i>	28
4.2	<i>Conclusions</i>	29
5	Annexe: rapport du laboratoire de référence national	30
5.1	<i>Ribotypage</i>	30
5.2	<i>Technique MLVA</i>	31
5.3	<i>Résultats</i>	32
5.4	<i>Conclusions</i>	37
6	References	38



Tables

<i>Tableau 1 : Participation des hôpitaux à la surveillance des infections à Clostridium difficile, et nombre d'épisodes rapportés. Belgique 2007-2013.....</i>	<i>11</i>
<i>Tableau 2 : Surveillance épidémiologique des infections à Clostridium dans les hôpitaux: caractéristiques des épisodes et des patients. Belgique 2007-2013.....</i>	<i>12</i>
<i>Tableau 3 : Incidence des infections à Clostridium difficile, hôpitaux belges, 2007-2013.....</i>	<i>13</i>
<i>Tableau 4 : Incidence des infections à Clostridium difficile acquises à l'hôpital déclarant, par 10.000 journées d'hospitalisation. Hôpitaux aigus, par région. Belgique, 2007-2013.</i>	<i>15</i>
<i>Tableau 5 : Infections à Clostridium difficile selon la spécialité du département où le diagnostic a été posé. 2013.....</i>	<i>18</i>
<i>Tableau 6 : Distribution par âge des patients avec un épisode d'infection à Clostridium-difficile, 2013.....</i>	<i>18</i>
<i>Tableau 7 : Séjours hospitaliers avec un diagnostic "infection intestinale due au Clostridium difficile" Belgium 1999-2010.....</i>	<i>19</i>
<i>Tableau 8 : Incidence moyenne des infections à Clostridium difficile infections par 1000 séjours hospitaliers, selon la source des données. Belgique, 2008-2010.</i>	<i>20</i>
<i>Tableau 9 : Clostridium difficile : fréquence des hôpitaux avec certains ribotypes spécifiques, Belgique 2009-2013.</i>	<i>21</i>
<i>Tableau 10 : Clostridium difficile : fréquence des échantillons avec certains ribotypes spécifiques. Belgique, 2009-2013.</i>	<i>21</i>
<i>Tableau 11 : Distribution des ribotypes de Clostridium difficile selon le groupe d'âge. Belgique, 2013.....</i>	<i>22</i>
<i>Table 12 : Décès attribués à une entérocologie à Clostridium difficile, par région. Belgique 1998-2010.....</i>	<i>23</i>
<i>Tableau 13: Comparaisons internationales - incidence des infections à Clostridium difficile.</i>	<i>25</i>
<i>Tableau 14 : Comparaisons internationales de la mortalité et de la gravité des infections dues au Clostridium difficile.....</i>	<i>27</i>

Graphiques

<i>Graphique 1 : Distribution de l'incidence des infections à Clostridium difficile acquises à l'hôpital déclarant-comparaison entre hôpitaux aigus et chroniques, Belgique 2007-2013.....</i>	<i>14</i>
<i>Graphique 2 : Incidence des infections à Clostridium difficile acquises à l'hôpital déclarant dans les hôpitaux aigus. Par région. Belgique, 2007-2013.</i>	<i>15</i>
<i>Graphique 3 : Distribution de l'incidence des infections à Clostridium difficile acquises à l'hôpital déclarant dans les hôpitaux aigus. Par région. Belgique, 2007-2013.....</i>	<i>16</i>
<i>Graphique 4 : Incidence mensuelle des infections à Clostridium difficile dans les hôpitaux belges, 2007-2013.....</i>	<i>17</i>
<i>Graphique 5 : Séjours hospitaliers avec une infection intestinale due au Clostridium difficile Belgique 1999-2011.....</i>	<i>20</i>
<i>Graphique 6 : Taux de mortalité standardisé pour l'âge pour les entérocolites à Clostridium difficile, par région, Belgique 1998-2010.....</i>	<i>24</i>



1 Introduction

1.1 Introduction générale

Les données de l'enquête de prévalence menée en Europe en 2013¹ indiquent une augmentation de la prévalence des infections à *Clostridium difficile* (ICD), en comparaison des enquêtes de prévalence antérieures. L'enquête 2013 a montré que les infections gastro-intestinales représentent 7.7% de toutes les infections associées aux soins, et sont pour moitié (48%) des ICD.² Les données belges situent la Belgique environ dans la moyenne inférieure, en comparaison des autres pays européens. Les données européennes contrastent avec les données américaines. Une enquête de prévalence aux Etats-Unis (2011) a montré que 17% de toutes les infections associées aux soins étaient gastro-intestinales (celles-ci étant, en terme de fréquence, au troisième rang, après les infections pulmonaires et les infections de site opératoire) ; 71% des infections gastro-intestinales étaient des ICD.³ L'enquête de prévalence 2013¹ a identifié *Clostridium difficile* comme le 8e pathogène le plus fréquent dans les infections associées aux soins en Belgique (4.2% de toutes les infections).

Une augmentation de l'incidence, de la sévérité, et de la mortalité attribuable aux ICD a été documentée dans plusieurs pays pendant la dernière décennie.⁴⁻⁶ Aux Etats-Unis et au Canada cette augmentation a été associée à l'émergence d'une souche hypervirulente épidémique, le ribotype 027⁷. Cette souche s'est rapidement répandue en Europe⁸, elle a été rapportée pour la première fois en Belgique en septembre 2005⁹. Cette souche a été caractérisée par une sévérité accrue de l'infection, un taux élevé de récurrence, et une létalité importante.^{10,11} C'est dans ce contexte qu'a été institué en 2007 le programme national de surveillance des ICD dans les hôpitaux belges.

Bien qu'en Europe de manière générale la prévalence du ribotype 027 apparemment continue à augmenter, une baisse de prévalence du ribotype 027 a été rapportée en Belgique¹² et au Royaume-Uni.¹³ Le ribotype 078 est en augmentation, et aux Pays-Bas et au Royaume-Uni, a été associé à un taux de complications élevé, en comparaison des autres ribotypes.^{14,15}

Les facteurs de risque associés à une ICD clinique sont la consommation d'antibiotiques (en particulier les céphalosporines et les fluoroquinolones¹⁶⁻¹⁸), une hospitalisation,^{18,19} un âge avancé,^{10,18} l'immunosuppression et la prise d'inhibiteurs de la pompe à protons.¹⁰ Les personnes prenant plus d'un antibiotique présentent un risque plus élevé.²⁰ La prise d'antibiotiques non seulement augmente le risque d'ICD pendant le traitement, mais également dans les 3 mois après la cessation du traitement, le risque le plus élevé étant dans le premier mois suivant l'utilisation des antibiotiques.¹⁰

La proportion de cas d'ICD associés aux soins de santé varie selon les études, des chiffres de 80%¹⁸ à 94%¹⁹ ont été rapportés. L'incidence des ICD associées aux soins est en augmentation.^{21,22} Au Royaume-Uni, une étude cas-contrôle en 2008 a trouvé que les cas d'ICD acquis dans la communauté représentaient 55% des cas d'ICD²⁰ et les données de la surveillance nationale confirment une tendance à l'augmentation de la proportion des cas d'ICD d'origine communautaire.²³

Des avancées récentes au niveau du typage et des analyses d'ADN sont utiles pour confirmer ou réfuter les vrais clusters d'ICD et comprendre les dynamiques de transmission entre la communauté, les institutions de soin, et les autres sources d'infection. Une grande variété de souches génétiques a été identifiée, remettant en cause la vision classique d'une transmission prépondérante à partir de cas symptomatiques dans les institutions de soins.^{24,25} Deux études de population au Royaume-Uni ont montré que seulement 25% des ICD étaient liées à une transmission intra-hospitalière²⁵ et que



pendant cette période, 45% des ICD étaient génétiquement distinctes de toutes les ICD précédentes; une étude aux Etats-Unis a montré que les ICD cliniques étaient liées autant à un portage asymptomatique qu'à des patients symptomatiques.²⁶

D'autres sources de contamination sont les aliments et les animaux^{24,27} (le ribotype 078, en augmentation, est la souche prédominante chez les cochons et les veaux¹⁰) ainsi que le contact avec les nourrissons colonisés.^{20,27} Etant donné que les cas dans la communauté sont moins susceptibles d'avoir été exposés aux antibiotiques,^{10,20} et la fréquence élevée du portage asymptomatique de *C. difficile* chez les nouveaux nés, ces sources pourraient contribuer de manière importante à la transmission.

Certaines avancées technologiques au niveau du diagnostic n'ont pas encore été implémentées en routine. Les stratégies diagnostiques varient d'un pays à l'autre, ou même à l'intérieur d'un pays, du fait de critères de sélection différents, la faible sensibilité des immunoassays pour la recherche de toxine (EIAs), la faible spécificité des tests d'amplification d'acide nucléique, et le délai pour l'obtention de résultats pour les assays de cytotoxicité et les cultures pour l'identification du *C. difficile* toxinogène. La dernière étude de prévalence en Europe a montré que 50% des hôpitaux n'utilisaient pas les méthodes diagnostiques les plus appropriées.¹ Les recommandations européennes²⁸ basées sur un essai clinique multicentrique comparant différents algorithmes diagnostiques²⁹ conseillent une stratégie diagnostique en 2 ou 3 étapes, mais l'harmonisation des pratiques entre pays et en Belgique reste à atteindre.

1.2 Objectifs de ce rapport

Ce rapport vise à décrire l'épidémiologie des ICD en Belgique. Pour ce rapport 2014, nous avons analysé les dernières données disponibles:

- Données de surveillance hospitalière (y comprises les données du laboratoire de référence) 2007 – 2013
- Données des Résumés Hospitaliers Minima (RHM) - 1999 à 2011
- Registres des décès - 1998 à 2010



2 Méthodes

2.1 Données de surveillance

La surveillance des ICD dans les hôpitaux belges a été introduite en juillet 2006 ; depuis juillet 2007 elle est obligatoire au moins un semestre par an pour tous les hôpitaux généraux, hors les hôpitaux et services Sp et G isolés de moins de 150 lits. (Cela s'applique tant au volet épidémiologique qu'au volet microbiologique de la surveillance). Les données sont récoltées en ligne.

Les modalités pratiques sont décrites dans le protocole de surveillance, disponible en ligne:

https://www.wiv-isp.be/nsih/surv_cdif/download_fr.asp

Les données de surveillance analysées pour ce rapport s'étalent sur la période allant du 1er janvier 2007 au 31 décembre 2013. Les hôpitaux rapportent les cas diagnostiqués à l'hôpital. Un cas est un patient qui remplit un ou plusieurs des critères suivants:

1. Diarrhée (*) ou mégacôlon toxique, et une analyse de laboratoire positive pour *C. difficile* toxine A et/ou B dans les selles ou une souche produisant des toxines identifiée dans les selles, par culture ou une autre méthode;
2. Colite pseudomembraneuse observée par rectocolonoscopie du tractus gastro-intestinal inférieur;
3. Caractéristiques histopathologiques d'infection par *C. difficile* dans le côlon (avec ou sans diarrhée), obtenues par biopsie lors d'une endoscopie, d'une colectomie ou à l'autopsie.

(*) Au moins 3 selles liquides sur une période de 24h ou moins.

Une infection à *Clostridium difficile* acquise à l'hôpital (HA-ICD) est, par définition, une ICD avec début des symptômes (diarrhée) survenant 2 jours ou plus après admission à l'hôpital déclarant (date début diarrhée- date hospitalisation ≥ 2)

2.2 Résumés Hospitaliers Minima

Chaque séjour à l'hôpital donne lieu à un enregistrement (RHM, Résumé Hospitalier Minimum). Les diagnostics posés pendant l'hospitalisation sont codés selon la classification ICD-9-CM (International Classification of Diseases, 9th Revision, Clinical Modification).³⁰ Nous avons analysé les séjours reprenant un code 008.45 (infections intestinales dues au *Clostridium difficile*) de 1999 à 2011 (dernière année disponible). Les diagnostics sont classés en 'diagnostic principal': défini comme étant la pathologie, établie après étude (c-à-d. pas nécessairement relative au diagnostic d'admission), comme expliquant le mieux l'hospitalisation du patient, et en 'autres diagnostics' (= diagnostics secondaires).

Les données (agrégées) ont été fournies par le Service Public Fédéral Santé Publique et reprennent tous les séjours hospitaliers « classiques » en Belgique; les hospitalisations de jour, et en psychiatrie, ont été exclues. (Les données fournies les années précédentes incluaient les hospitalisations de jour ; les analyses ont donc été refaites cette année pour toutes les données depuis 1999 ; l'exclusion des hospitalisations de jour permet une meilleure comparabilité avec les données de surveillance).



2.3 Données du laboratoire de référence

Le laboratoire de référence national pour *C. difficile* (National Reference Centre - NRC-CD) a été officiellement établi en 2011 mais est partie prenante de la surveillance depuis 2006. Il s'agit du laboratoire de l'hôpital Saint Luc (Université Catholique de Louvain) à Bruxelles.

Depuis 2007, le programme de surveillance obligatoire inclut une composante microbiologique et requiert l'envoi de 5 souches (maximum) de *C. difficile* isolées de manière consécutives par période de surveillance de 6 mois. Il reste possible, en accord avec le laboratoire de référence, d'envoyer un plus grand nombre de souches dans le cadre de l'investigation d'une augmentation anormale du nombre de cas, ou en cas de suspicion d'épidémie.

Chaque échantillon reçu est typé. (voir rapport détaillé en annexe).

Il est maintenant possible de lier les données épidémiologiques avec les données du laboratoire.

2.4 Registres des décès

Les certificats de décès en Belgique sont codés selon la classification ICD-10.³⁰

Nous avons analysé les certificats de décès portant le code A04.7 : « décès relatif aux entérocolites dues au *Clostridium difficile* » comme cause initiale du décès (« underlying cause of death ») pour les années 1998 à 2010 (dernière année disponible).

Les données ont été extraites des registres de décès, fournis par la Direction Générale Statistique et Information Economique (DGSIE).³¹

Pour le calcul du taux de mortalité standardisé pour l'âge, nous avons choisi la méthode de standardisation directe en utilisant comme référence la population belge du milieu de l'année 2005,³² divisée en 3 catégories d'âge: 0-64, 65-79, \geq 80 ans.

Les décès sont comptés en fonction de la région où est survenu le décès, et non en fonction de la région de résidence. Le dénominateur est le nombre de résidents par région.



3 Résultats

3.1 Données de surveillance

3.1.1 Participation des hôpitaux, caractéristiques des épisodes et des patients.

Les données analysées sont telles que mises à jour le 1er April 2014.

Tableau 1 : Participation des hôpitaux à la surveillance des infections à *Clostridium difficile*, et nombre d'épisodes rapportés. Belgique 2007-2013

	Année	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
N hôpitaux participant au moins un semestre par an		131	148	149	147	145	144	141
N hôpitaux participant 2 semestres par an		91	110	113	117	117	108	112
Nombre d'hôpitaux-semestres		222	258	262	264	262	252	253
% des hôpitaux-semestres ne rapportant pas d'épisodes*		32%	13%	10%	8%	7%	10%	10%
Episodes d'infections à <i>Clostridium difficile</i> : nombre rapporté par hôpital-semestre								
	P25	0	3	3	3	3	3	3
	P50	5	8	8	7	7	7	7
	P75	12	15	14	13	12	14	15
	max	117	89	113	68	94	96	83

* Avant 2008, il n'était pas possible de faire la différence entre « pas de cas » et pas de « rapportage », ce qui explique vraisemblablement la grande proportion d'hôpitaux qui n'ont rapporté aucun cas, en comparaison avec les années suivantes. Pour l'année 2007, les données d'incidence sont donc sous-estimées (puisque certains des hôpitaux, n'ayant pas rapporté, ont été considérés comme n'ayant rapporté aucun cas).

La participation des hôpitaux est importante et la majorité des hôpitaux participe à la surveillance pendant une année complète, bien que l'obligation ne porte que sur un semestre par an.

Il existe une grande variation dans le nombre d'épisodes rapporté par les hôpitaux chaque semestre.

Tableau 2 : Surveillance épidémiologique des infections à *Clostridium* dans les hôpitaux: caractéristiques des épisodes et des patients. Belgique 2007-2013

	Année	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Episodes								
Total des épisodes rapportés		1,886	2,992	2,947	2,461	2,515	2,507	2,658
Episodes acquis à l'hôpital déclarant (HA-ICD) ,%		65%	64%	61%	61%	63%	61%	59%
Episodes récurrents* (%)								
	Non	75%	71%	72%	74%	76%	74%	73%
	Oui	11%	11%	10%	9%	8%	9%	9%
	Inconnu	14%	17%	18%	17%	16%	17%	17%
Origine suspectée de l'infection (% des infections autres que celles acquises à l'hôpital déclarant)								
	Communauté	57%	56%	57%	59%	60%	63%	62%
	Institutions de soins chroniques	12%	16%	14%	12%	10%	10%	11%
	Autre hôpital	22%	19%	16%	17%	18%	15%	15%
	Inconnu-manquant	8%	10%	12%	11%	12%	12%	13%
Patients								
Total des patients		1,811	2,831	2,787	2343	2414	2,401	2,528
Sex: féminin (%)		58%	59%	59%	60%	59%	57%	57%
Age median (years)								
	Episodes acquis à l'hôpital déclarant	78	80	80	79	80	79	80
	Autres épisodes	74	75	74	74	74	74	74
Décès endéans les 30 jours du début de l'épisode – ICD considérée comme cause directe ou indirecte du décès. (%)		11%	10%	5%	4%	3%	3%	4%

**début de la diarrhée 2 jours ou plus après admission à l'hôpital déclarant*

** *Proportion des épisodes qui sont des recurrences, et non l'incidence de recurrence chez les patients présentant un nouvel épisode d'ICD).*

Le taux de mortalité élevé observé en 2007-2008 est probablement en partie un artéfact. Avant 2008, il n'était pas possible de distinguer un décès non lié à l'ICD. Le fait de considérer le décès comme lié de façon directe ou indirecte à l'ICD est une décision clinique subjective. Il semble y avoir une légère augmentation dans la proportion des épisodes acquis dans la communauté, à mettre en relation avec la diminution des épisodes acquis à l'hôpital déclarant, et la diminution des épisodes dont l'origine suspectée est une autre hôpital.

L'âge médian des patients souffrant d'une ICD acquise à l'hôpital déclarant est plus élevé que l'âge des autres patients souffrant d'une ICD. La proportion des épisodes récurrents est restée stable.



3.1.2 Incidences annuelles

Tableau 3 : Incidence des infections à *Clostridium difficile*, hôpitaux belges, 2007-2013

	Année	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Dénominateurs								
N hôpitaux inclus dans le calcul des incidences (12 mois de dénominateurs disponibles)								
		73	103	108	111	113	104	105
N avec durée moyenne de séjour (DMS) < 14 jours								
		69	94	96	102	102	94	92
N hôpitaux avec DMS ≥ 14 jours								
		4	9	12	9	11	10	13
Episodes acquis à l'hôpital déclarant (HA-ICD)*								
/ 10,000 journées d'hospitalisation:								
	Incidence moyenne**	1.11	1.57	1.44	1.23	1.20	1.18	1.29
	Médiane	0.75	1.42	1.11	1.00	1.02	0.95	1.08
/ 1000 admissions								
	Incidence moyenne**	0.89	1.24	1.12	0.92	0.90	0.89	0.96
	Médiane	0.60	1.14	1.01	0.80	0.78	0.76	0.87
Autres épisodes								
/ 1000 admissions								
	Incidence moyenne**	0.49	0.73	0.71	0.56	0.54	0.61	0.70
	Médiane	0.44	0.69	0.58	0.55	0.51	0.52	0.56
Total épisodes								
/1000 admissions								
	Incidence moyenne**	1.38	1.97	1.83	1.48	1.44	1.50	1.65
	Médiane	1.16	1.94	1.63	1.28	1.41	1.31	1.54

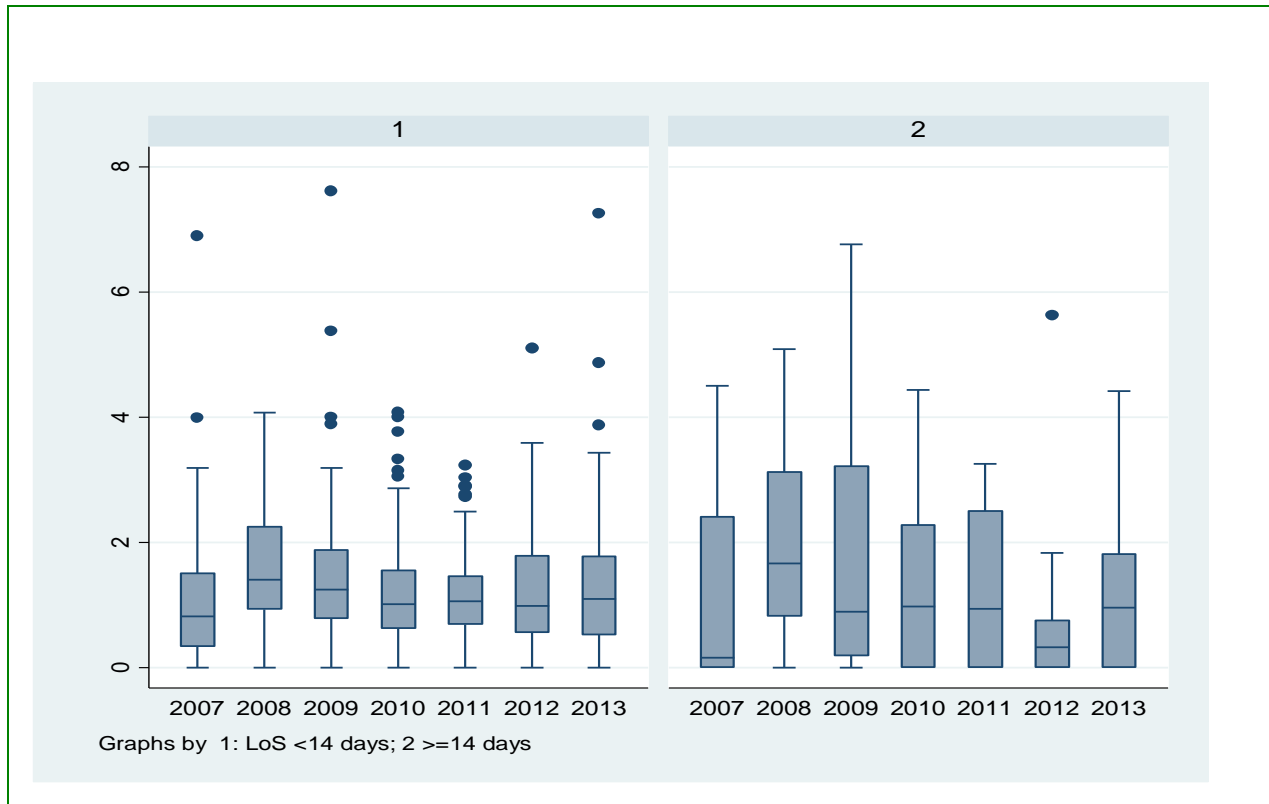
* début de la diarrhée 2 jours ou plus après admission à l'hôpital déclarant ** Incidence moyenne: total des épisodes/total des dénominateurs. DMS: durée moyenne de séjour.

A titre de comparaison, l'incidence moyenne des infections nosocomiales à MRSA (échantillons cliniques) était de 1.1/1000 admissions dans les hôpitaux aigus en Belgique en 2012.³³

La Tableau 3 montre une augmentation des incidences dans les 3 dernières années. Les taux d'incidence des HA-ICD ainsi que des autres ICD, sont à leur niveau le plus élevé depuis 2009. Ainsi qu'expliqué plus haut, les chiffres de 2007 sont sans doute sous-estimés. Le Graphique 1 met en évidence la grande variabilité d'incidence entre les hôpitaux.



Graphique 1 : Distribution de l'incidence des infections à *Clostridium difficile* acquises à l'hôpital déclarant- comparaison entre hôpitaux aigus et chroniques, Belgique 2007-2013



Seuls les hôpitaux ayant fourni des données complètes pour l'année entière sont inclus. Nombre moyen des hôpitaux inclus, sur 7 ans: Flandre 49, Wallonie 29, Bruxelles 15. LOS= length of stay=durée moyenne de séjour. Hôpitaux aigus: définis sur base d'une durée moyenne de séjour <14 jours.

Le tableau 4 et le Graphique 2 comparent l'incidence des HA-ICD entre les 3 régions de Belgique, entre 2007 et 2013. Depuis 2010, l'incidence moyenne est de manière constante plus faible en Flandre qu'à Bruxelles et en Wallonie. Le graphique 3 montre l'importante variation en incidence entre les hôpitaux des 3 régions. La variation la plus importante est observée en Wallonie.

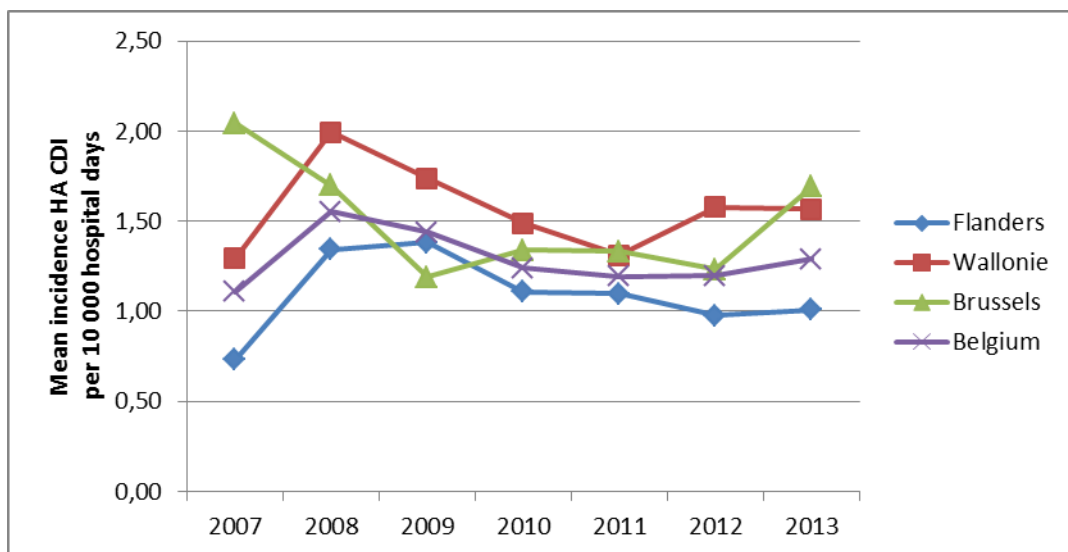


Tableau 4 : Incidence des infections à *Clostridium difficile* acquises à l'hôpital déclarant, par 10.000 journées d'hospitalisation. Hôpitaux aigus, par région. Belgique, 2007-2013.

année	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Flandres							
N hôpitaux	38	52	54	56	54	43	45
Incidence moyenne	0.73	1.34	1.38	1.11	1.10	0.98	1.01
Wallonie							
N hôpitaux	18	28	28	30	32	34	34
Incidence moyenne	1.29	1.99	1.74	1.49	1.31	1.58	1.57
Bruxelles							
N hôpitaux	13	14	14	16	16	17	13
Incidence moyenne	2.04	1.70	1.19	1.34	1.33	1.23	1.69

Seuls les hôpitaux ayant fourni des données complètes pour l'année entière sont inclus. Hôpitaux aigus: définis sur base d'une durée moyenne de séjour <14 jours. Incidence moyenne : total épisodes/total dénominateurs.

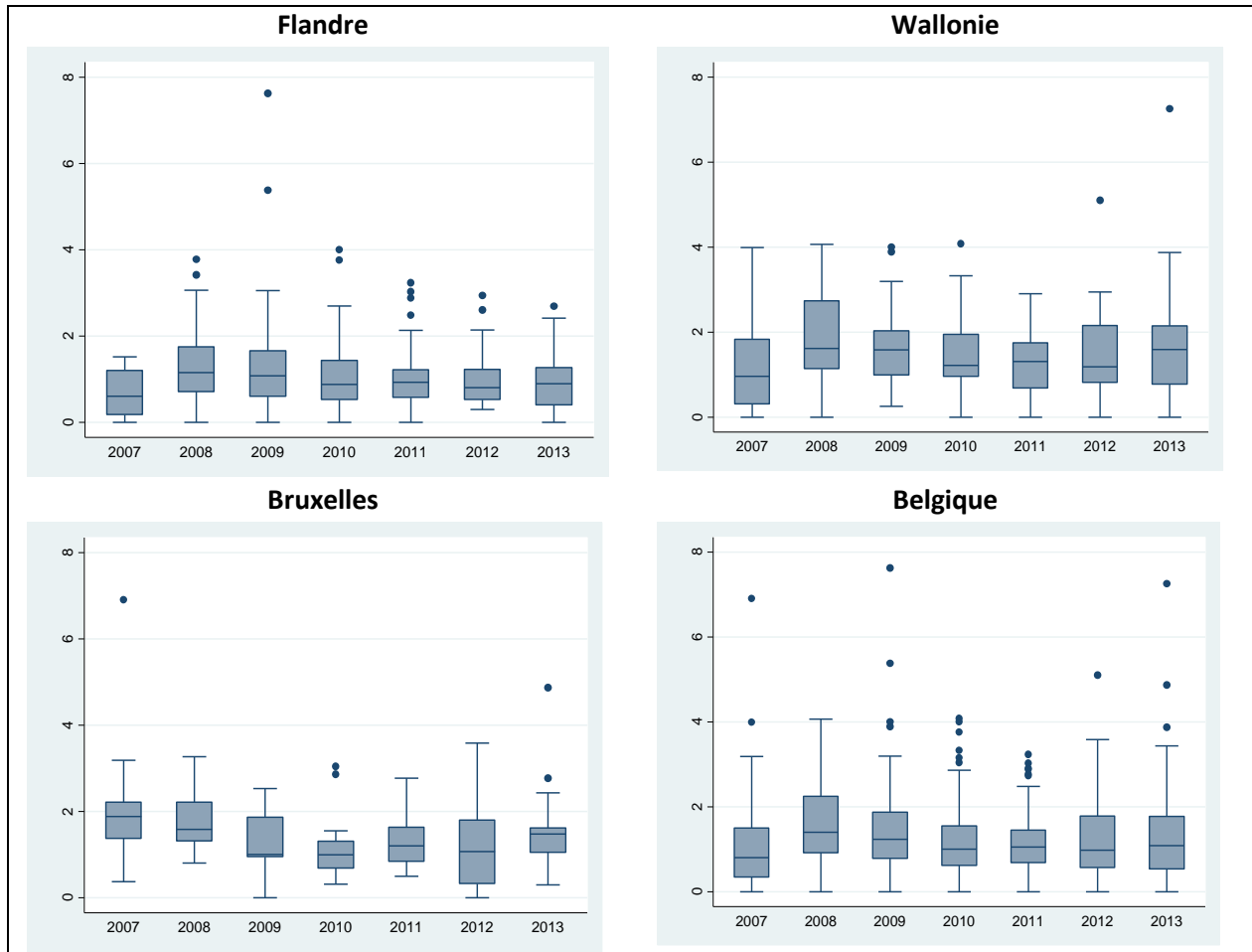
Graphique 2 : Incidence des infections à *Clostridium difficile* acquises à l'hôpital déclarant dans les hôpitaux aigus. Par région. Belgique, 2007-2013.



Seuls les hôpitaux ayant fourni des données complètes pour l'année entière sont inclus. Hôpitaux aigus: définis sur base d'une durée moyenne de séjour <14 jours. Incidence moyenne : total épisodes/total dénominateurs.



Graphique 3 : Distribution de l'incidence des infections à *Clostridium difficile* acquises à l'hôpital déclarant dans les hôpitaux aigus. Par région. Belgique, 2007-2013

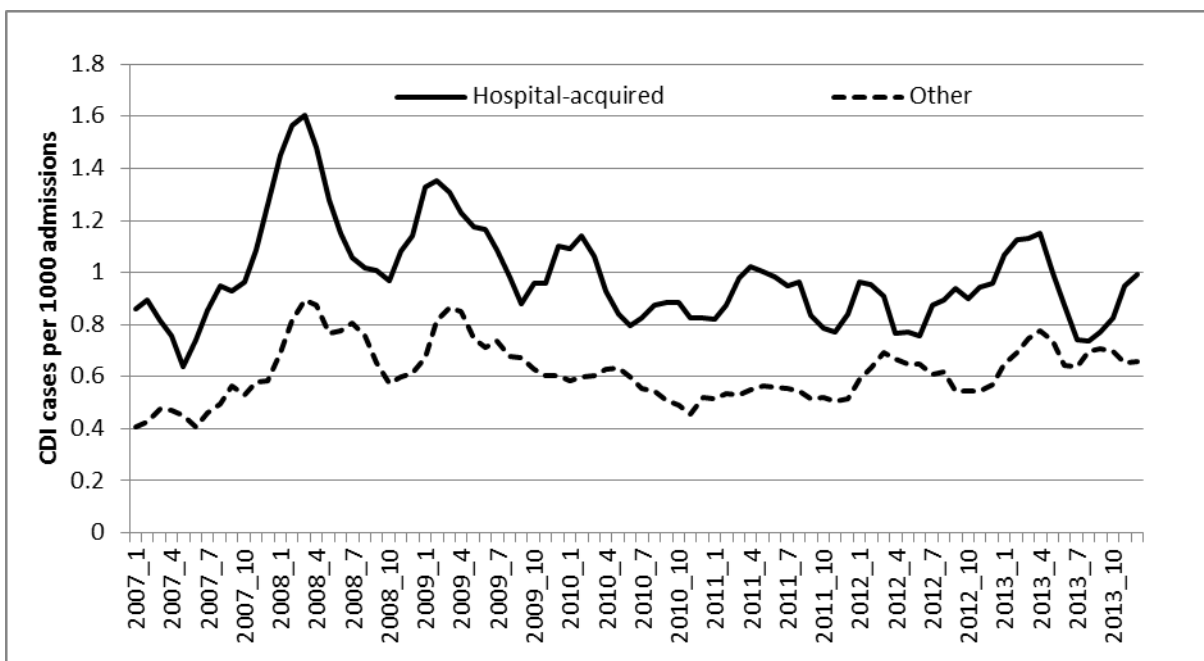


Seuls les hôpitaux ayant fourni des données complètes pour l'année entière sont inclus. Hôpitaux aigus: définis sur base d'une durée moyenne de séjour <14 jours.

3.1.3 Variation saisonnière

Le Graphique 4 montre le pic saisonnier d'incidence en mars-avril. Les épisodes acquis à l'hôpital suivent les mêmes tendances que les autres épisodes.

Graphique 4 : Incidence mensuelle des infections à *Clostridium difficile* dans les hôpitaux belges, 2007-2013



Seuls les hôpitaux ayant fourni des données complètes pour l'année entière sont inclus.

Moyennes flottantes. Chaque incidence mensuelle est la moyenne du mois en cours, du mois précédent, et du mois suivant.



3.1.4 Description des épisodes - 2013

Le Tableau 55 montre que la majorité des infections surviennent en gériatrie; près de 70% des épisodes se retrouvent dans 6 spécialités (sur 29).

Tableau 5 : Infections à *Clostridium difficile* selon la spécialité du département où le diagnostic a été posé. 2013

Spécialité du département	N	%
Gériatrie	812	31
Gastroentérologie	304	11
Médecine	250	9
Hémato-oncologie	199	7
Soins intensifs	152	6
Pneumologie	126	5
Autre	815	31
Total	2658	100

La distribution par âge des patients n'a pas évolué entre 2007 et 2013. Les données 2013 sont présentées dans le tableau 6.

Tableau 6 : Distribution par âge des patients avec un épisode d'infection à *Clostridium-difficile*, 2013

Tranche d'âge	N	%
0-2	43	1.6%
3-64	638	24.4%
65-79	698	27.6%
80-max	1 149	45.5%
Total	2 528	100%



3.2 Données de séjours hospitaliers (RHM)

Les séjours hospitaliers avec un diagnostic principal ou secondaire “infection intestinale due au *Clostridium difficile*” ont presque triplé entre 1999 et 2008, mais semblent diminuer de 2008 à 2011 (dernières données disponibles).

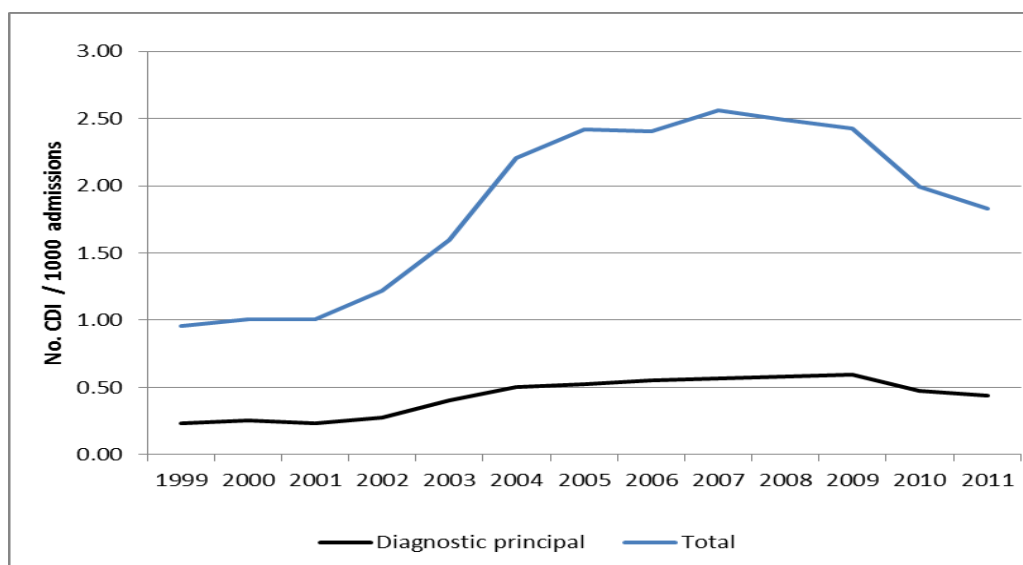
La proportion de séjours avec un diagnostic principal d’ICD – supposé dans ce cas être la raison de l’admission – reste stable. Ces séjours représentent une approximation des épisodes d’origine communautaires (suffisamment sévères que pour justifier une hospitalisation), bien que pour certains patients, le début des symptômes peut être survenu dans un autre hôpital ou dans une institution de soins chroniques.

Tableau 7 : Séjours hospitaliers avec un diagnostic “infection intestinale due au *Clostridium difficile*” Belgium 1999-2010

	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
ICD* en diagnostic principal	415	467	423	501	723	907	959	1007	1040	1116	1148	920	866
% of the total	25%	26%	23%	23%	25%	23%	22%	23%	22%	23%	25%	24%	24%
ICD* en diagnostic secondaire	1270	1356	1404	1698	2155	3086	3456	3383	3646	3633	3514	2947	2715
Total	1685	1823	1827	2199	2878	3993	4415	4390	4686	4749	4662	3867	3581

* ICD-9_CM 008.45 code.

Graphique 5 : Séjours hospitaliers avec une infection intestinale due au *Clostridium difficile* Belgique 1999-2011



* Code ICD-9_CM 008.45

Le tableau 8 montre que l'incidence des ICD est plus élevée (25-35%) quand elle est calculée à partir des données de séjours hospitaliers. Cela peut s'expliquer en partie par des dénominateurs différents (les données des RHM rapportées ici excluent les séjours en psychiatrie). D'autre part les données de surveillance couvrent seulement les données des hôpitaux qui participent une année entière à la surveillance, alors que les données des séjours hospitaliers sont exhaustives. L'important cependant est que la différence entre les 2 sources reste relativement stable (sauf pour 2007), et donc que les données de surveillance fournissent une mesure valide des tendances d'incidence des ICD.

Tableau 8 : Incidence moyenne des infections à *Clostridium difficile* infections par 1000 séjours hospitaliers, selon la source des données. Belgique, 2008-2010.

	2007	2008	2009	2010	2011
Données des séjours hospitaliers (RHM)(a)	2.56	2.49	2.43	1.99	1.83
Données de la surveillance obligatoire (b)	1.38	1.97	1.83	1.48	1.44
a/b	186%	126%	132%	135%	127%



3.3 Surveillance microbiologique – données du laboratoire de référence

3.3.1 Evolution des ribotypes

Une grande variété de souches a été identifiée. Les tendances annuelles montrent une diminution constante du ribotype 027 (voir rapport complet du laboratoire de référence, en annexe).

Tableau 9 : *Clostridium difficile* : fréquence des hôpitaux avec certains ribotypes spécifiques, Belgique 2009-2013.

Year of surveillance	2009	2010	2011	2012	2013
N hôpitaux (sites différents) ayant envoyé des échantillons pour typage	104	103	84	111	103
N hôpitaux avec ribo 027	35	34	17	19	15
% avec ribo 027	34%	33%	20%	17%	15%
N hôpitaux avec ribo 014 (type UCL 16)	35	34	32	45	38
% avec ribo 014	34%	33%	38%	41%	37%
N hôpitaux avec ribo 078 (type UCL 03)	11	26	20	35	37%
% avec ribo 078	11%	26%	24%	32%	24%

Tableau 10 : *Clostridium difficile* : fréquence des échantillons avec certains ribotypes spécifiques, Belgique, 2009-2013.

	2009	2010	2011	2012	2013
N échantillons typables reçus par le laboratoire de référence	389	505	462	648	585
N 027	72	62	36	32	22
% ribo 027	19%	12%	8%	5%	4%
N 014 (UCL 16)	44	51	56	67	50
% ribo 014 (UCL 16)	11%	10%	12%	10%	9%
N 078 (UCL 3)	13	33	35	48	30
% samples 078 (UCL 3)	3%	7%	8%	7%	5%



3.3.2 Lien des données de laboratoire avec les données de surveillance épidémiologique

Il a été possible de lier les données de 621 (82%) échantillons envoyés au laboratoire de référence, avec les données de la surveillance épidémiologique en 2013.

La distribution des ribotypes ne variait pas selon l'âge (voir Tableau 11) ou le sexe (non montré).

Le ribotype 014/020 est plus fréquent dans les cas acquis à l'hôpital déclarant, que dans les autres cas (27% versus 22%). Il ne semble pas y avoir de différence pour les autres ribotypes, entre ce qui concerne ce critère (HA-ICD, autres).

Pour 512/621 cas, l'information « récurrence, ou non » était disponible. Parmi les 36/512 cas classés comme récurrents, 18 ribotypes différents ont été identifiés, et aucun ribotype ne prédominait.

Tableau 11 : Distribution des ribotypes de *Clostridium difficile* selon le groupe d'âge. Belgique, 2013

<i>Groupe d'âge</i>	<i>N</i>	<i>Ribotype (% du total)</i>
0-64	137	014/020 (28%), 015/001 (12%), 078 (7%) 027 (1%)
65-79	171	014/020 (16%), 015/001 (11%), 002 (6%), 078 (6%), 027 (2%)
80+	312	014/020 (22%), 002 (9%), 015/001 (8%), 027 (5%), 078 (3%)

(Seulement pour les ribotypes avec une prévalence > 5% ; et pour les ribotypes 027 and 078)



3.4 Données des registres de décès

Nous avons repris dans les analyses les certificats de décès reprenant une entérocolite à *Clostridium difficile* (code ICD-10 A04.7) comme cause initiale du décès (underlying cause of death).

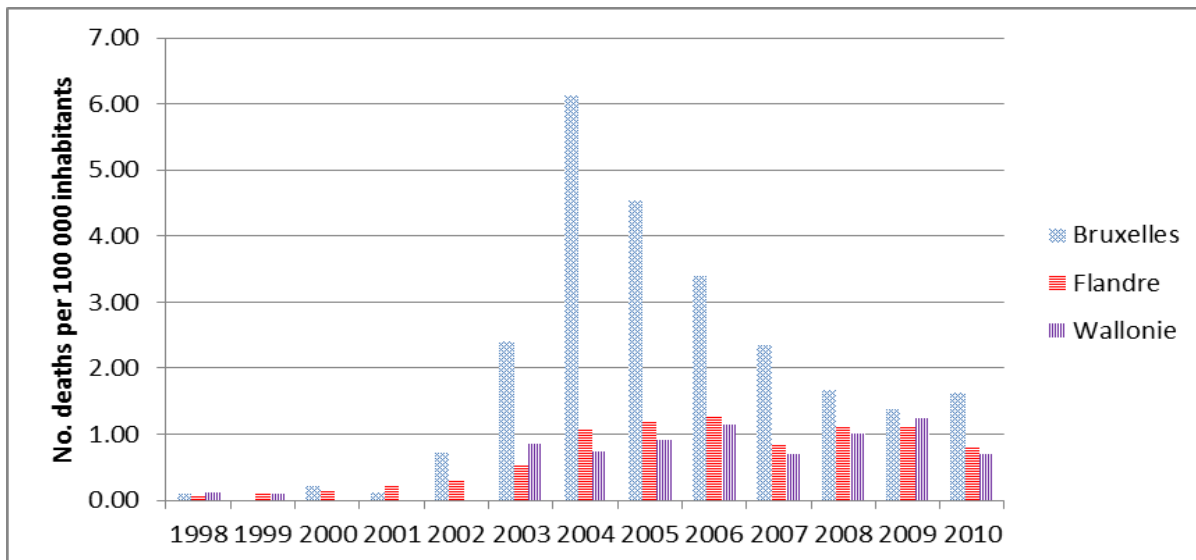
Table 12 : Décès attribués à une entérocolite à *Clostridium difficile*, par région. Belgique 1998-2010

	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Nombre de certificats de décès avec un code ICD-10 A04.7 comme cause initiale du décès.													
Bruxelles	1	0	2	1	7	24	61	47	36	24	16	14	17
Flandre	4	6	7	11	17	30	63	72	80	54	75	76	55
Wallonie	3	3	NA	NA	NA	17	24	31	40	25	36	45	26
Belgique	8	9	NA	NA	NA	71	148	150	156	103	127	135	98
Taux brut de mortalité spécifique, par 100 000 habitants													
Bruxelles	0.10	0.00	0.21	0.10	0.71	2.41	6.08	4.64	3.51	2.31	1.51	1.30	1.54
Flandre	0.07	0.10	0.12	0.18	0.28	0.50	1.04	1.19	1.31	0.88	1.21	1.22	0.88
Wallonie	0.09	0.09	NA	NA	NA	NA	0.71	0.91	1.17	0.73	1.04	1.29	0.74
Belgique	0.08	0.09	NA	NA	NA	0.68	1.42	1.43	1.48	0.97	1.19	1.25	0.90

La mortalité due aux entérocolites à *Clostridium difficile* a augmenté rapidement de 1998 à 2004. Depuis 2006, le nombre de décès a considérablement diminué.

Bruxelles a le taux de mortalité spécifique standardisé le plus élevé.

Graphique 6 : Taux de mortalité standardisé pour l'âge pour les entérocolites à *Clostridium difficile*, par région, Belgique 1998-2010



Standardisation directe en utilisant comme référence la population belge de la mi-année 2005, selon 3 groupes d'âge (0-64, 65-79, 80+).

* Code ICD-10 A04.7



3.5 Comparaisons internationales

Tableau 13: Comparaisons internationales - incidence des infections à *Clostridium difficile*.

	France ^{34,35}	US ³⁶	Australie ³⁷	Angleterre ^{13,38}	Scotland ^{39,40}	Germany ⁴¹	Netherlands ¹⁴	Belgique*
	2009	2010	2011-2012	2012/13	2012	2012	2012-13	1 an
	6 mois	1 an	1 an	1 an	1 an	1 an	1 an	Surv obligatoire 2013
	Enquête volontaire	Séjours hospit.	Surveillance volontaire	Surveillance obligatoire	Surveillance obligatoire – Tous age 15+	Surveillance volontaire	Surveillance volontaire	Séjours hospitaliers 2011
N hôpitaux	105	92% du total	450	161		163	19	105 ou tous hôp.
Tendance des incidences		↑ 2001-2010	↑ 2011-2012	↓ 2007 - 2013	↓ 2007-2012	Stable 2007-2012	Stable 2010-2013	Stable or ↑
total /								
10 000 journées d'hosp.	2.3		3.7		3.8	7.2	2.9	
1 000 admissions	11.5				2.1	1.5	1.7	1.7
100 000 population				27.7				34.2
Cas acquis à l'hôpital /								
10 000 journées d'hospitalisation	1.3		3.0	1.73		4.2		1.3
1 000 admissions	0.6							1.0
100 000 population		26.0						
% acquis à l'hôpital				41		59		59

Les définitions des numérateurs et des dénominateurs varient selon les études - Certains dénominateurs n'incluent que les >2 ans, d'autres tous les groupes d'âge ; certains incluent également les patients ambulatoires. Au Royaume-Uni les patients non hospitalisés sont inclus.

*Chiffres présentés dans ce rapport.

β Chiffres de l'enquête de prévalence aux Etats-Unis 183 hôpitaux - 2011^{3,42}



Le Tableau 13 montre que l'incidence moyenne en Belgique en 2013 est à mi-chemin entre l'incidence en Allemagne (la plus élevée) et l'incidence aux Pays-Bas (la plus basse). L'incidence des cas acquis à l'hôpital en Belgique en 2013 était la même qu'en France en 2009, et moins élevée que les taux rapportés en Allemagne, Australie, et Angleterre de 2011 à 2013.

Ces comparaisons internationales sont à interpréter avec prudence. L'exhaustivité de la surveillance varie d'un pays à l'autre, seule la Belgique et l'Angleterre utilisent une surveillance obligatoire, d'autres pays utilisent une surveillance à participation volontaire, et certains pays des enquêtes ponctuelles ; la fréquence du testing varie entre les pays (jusqu'à 47 fois selon l'enquête européenne en 1998) ; les algorithmes diagnostiques varient, ainsi que la sensibilité des tests utilisés, la définition d'une infection, les cas acquis à l'hôpital, ou associés à l'hôpital, ainsi que les dénominateurs; les cas survenant après la sortie de l'hôpital peuvent être inclus dans certains pays.

Il semble possible de conclure cependant que l'incidence des infections à *Clostridium difficile* en Belgique se situe dans la moyenne européenne¹⁸, et est moins élevée qu'aux Etats-Unis.

Certaines données européennes montrent que l'augmentation rapide des ICD au début des années 2000, s'est stabilisée aux alentours de 2007-2009.^{43,44} Cependant, bien que l'incidence dans certains pays ait diminué de manière importante, par exemple en Angleterre et en Ecosse, une diminution qui semble se confirmer,^{13,38-40} les taux d'incidence aux Etats-Unis et en Australie continuent à augmenter,^{36,37} et des études de prévalence répétées en Europe indiquent une augmentation en Europe dans son ensemble. Les enquêtes en Europe ont calculé une moyenne de 2.5, 4.1¹ and 7.9 épisodes par 10 000 journées d'hospitalisation respectivement en 2005¹¹, 2008-9¹⁸ et 2012-13¹. L'avenir dira si la récente augmentation en Belgique se confirme. Les études de prévalence en Europe ont également montré une augmentation de prévalence du ribotype 027 en Europe dans son ensemble,¹ ce qui contraste avec la diminution au Royaume Uni et en Belgique. (voir Tableau 10). D'autre part la mortalité, (tableau 14), semble avoir diminué en Europe et aux Etats-Unis depuis 2007 ou 2008.^{41,45-47} Les comparaisons sont cependant difficiles. En Belgique, ne sont comptés que les certificats de décès avec en cause initiale le code ICD-10 A04.7. Au Royaume-Uni la définition de décès attribuable à une infection à *Clostridium difficile*, est plus large.

¹ Calculé en utilisant seulement les chiffres provenant de pays ayant testé ≥ 150 patients



Tableau 14 : Comparaisons internationales de la mortalité et de la gravité des infections dues au *Clostridium difficile*

	Northern Ireland ⁴⁶	England & Wales ⁴⁷	Germany ⁴¹	Europe ¹¹	Belgium*
	2012	2012	2012	2005	2010
Deaths /1m popn*	26.5	15.3			9.4
Trend	↓ Since peak 2008	↓ Since peak 2007			↓ Since peak 2006
% of all hospital deaths	0.7	0.8			
Severe CDI			↓ Since 2007		

(*Taux de mortalité spécifique standardisé, en utilisant la population européenne standard comme population de référence) m: million; popn: population



4 Discussion et conclusions

4.1 Discussion

Ce rapport fait la synthèse des différentes sources de données disponibles quant à l'épidémiologie des ICD en Belgique. Un grand nombre d'hôpitaux participe à la surveillance pendant toute l'année, bien que l'obligation légale ne porte que sur 6 mois. Toutes les sources confirment l'augmentation importante d'incidence et de mortalité dans la dernière décade, avec un pic entre 2007-2008.

L'incidence a décliné jusqu'en 2011 mais semble augmenter à nouveau, et les données d'incidence de 2013 sont les plus élevées depuis 2009. Les dernières données de surveillance hospitalière semblent montrer une augmentation dans la proportion des cas provenant de la communauté, ce qui a été décrit dans d'autres pays, mais cette augmentation est peu importante. L'avenir dira si ces tendances se confirment.

En 2013, l'incidence des ICD à l'hôpital était de 1.65 per 1000 admissions. L'incidence moyenne des ICD acquises à l'hôpital déclarant était de 1.29 épisodes par 10 000 journées d'hospitalisation. L'incidence est de manière constant plus basse en Flandre.

La mortalité spécifique due aux ICD était de 0.90 décès par 100.000 habitants. Cette mortalité est stable ou en diminution dans toutes les régions. Les taux de mortalité sont les élevés à Bruxelles et les plus faibles en Wallonie.

L'incidence des ICDs montre une variation saisonnière avec un pic pendant les de mars et avril. Les cas acquis à l'hôpital montrent une variation saisonnière parallèle aux autres cas. Un projet de recherche pourrait analyser une possible association avec le traitement antibiotique des infections respiratoires saisonnières.

Il existe une grande variabilité d'incidence entre les hôpitaux et entre les régions. Même en tenant compte des précautions d'usage dans l'interprétation (différentes populations de patients, différents tests diagnostiques), cette variabilité laisse à penser qu'il existe un potentiel de prévention important.

Les caractéristiques des cas semblent stables depuis le début de la surveillance (âge, sexe, proportion des cas récurrents, proportion des cas dont l'origine supposée est une institution de soins chroniques, proportion des cas qui décèdent, et dont le décès est attribué, directement ou indirectement à l'ICD).

L'incidence des ICD calculée sur base des données de séjours hospitaliers (RHM) est plus élevée que l'incidence calculée sur base des données de surveillance (2008-2011), mais la différence est relativement constante. Les données de surveillance sont donc valides, quand il s'agit d'interpréter des tendances.

D'autres pays utilisent des définitions et des méthodes quelque peu différentes. Dans la mesure du possible nous avons essayé d'être cohérents avec les méthodes et les recommandations en usage dans l'Union Européenne et dans le monde. Les cas d'ICD survenant chez des enfants de moins de 2 ans sont inclus dans la surveillance en Belgique; les cas acquis à l'hôpital sont définis comme des cas dont les symptômes surviennent 2 jours (et non 3) après admission à l'hôpital déclarant (soit à partir du surlendemain de l'admission). Nous avons montré que seulement 43 (1.6%) de tous les cas en 2013 étaient âgés de 0 à 2 ans, et que leur exclusion ne changeait guère les chiffres d'incidence. Redéfinir un cas acquis à l'hôpital comme survenant au moins 3 jours après l'admission, n'avait quasiment pas d'impact sur le calcul des incidences.



Nous avons montré qu'une grande variété de ribotypes circule en Belgique, ce qui indique la multiplicité des voies de transmission. La prévalence du ribotype 027 continue de diminuer. L'augmentation du ribotype 078 s'est stabilisée à environ 7% des échantillons typés. La souche dominante est maintenant le ribotype 014 (26% des échantillons typés). Il est maintenant possible de faire le lien entre les données du laboratoire de référence et les données de surveillance épidémiologique. Ce « linkage » s'améliore chaque année.

Les comparaisons internationales montrent que l'incidence des ICD en Belgique se situe dans la moyenne européenne et est plus basse qu'aux Etats Unis.

En conclusion, l'incidence des ICD est restée stable ces dernières années mais semble augmenter en Belgique et en Europe. La mortalité spécifique reste stable, mais varie selon les régions. It has been stable over recent years, but may be starting to increase again in Belgium and in Europe. Il existe une grande variété de ribotypes circulants. La souche responsable des épidémies de 2014 est en diminution en Belgique.

4.2 Conclusions

- L'incidence des infections à *Clostridium difficile* a atteint un pic en 2008. L'incidence rapportée en 2013 est cependant la plus élevée depuis 2009.
- La mortalité spécifique due aux ICD a diminué après les pics de 2004-2005. Il n'existe pas d'indications d'une augmentation de la sévérité des cas d'ICD ces dernières années.
- L'incidence des cas acquis à l'hôpital est très variable entre hôpitaux et régions, ce qui pointe vers un important potentiel de prévention.
- L'incidence des ICD montre une variation saisonnière, avec un pic en mars-avril.
- Les données suggèrent une possible augmentation de la proportion des cas communautaires depuis 2011, cette tendance reste à confirmer.
- Les données du laboratoire de référence démontrent la grande variété des souches circulantes. La tendance la plus notable est la diminution depuis 2009 de la souche hypervirulente responsable des épidémies en 2003-2004 (ribotype 027). La souche prédominante en Belgique en 2013 est le ribotype 014/020.



5 Annexe: rapport du laboratoire de référence national

M. Delmée, V. Avesani, E. Ngyuvula, L. Muyltjens, J. Van Broeck.

Depuis 2007, le programme de surveillance comprend obligatoirement pour chaque laboratoire médical hospitalier belge agréé un volet bactériologique. Il est demandé à chaque entité d'envoyer cinq souches de *C. difficile* isolées consécutivement durant un semestre de l'année en y adjoignant les renseignements tels que repris sur le site de l'ISP (https://www.wiv-isp.be/Nsihweb/App_GUI/COMMON/Login.aspx). De façon facultative chaque laboratoire peut adresser une seconde série de cinq souches durant le second semestre de l'année.

En cas de problème épidémique dans une unité d'hospitalisation ou un hôpital, les souches isolées peuvent également être adressées au centre de référence aux fins de typage.

Chaque souche reçue dans ce cadre est préalablement confirmée quant à son identification et typée. La méthode de typage utilisée est le ribotypage qui est actuellement la méthode utilisée dans la majorité des centres de références européens .

5.1 Ribotypage

La technique de ribotypage est basée sur l'existence chez les bactéries de plusieurs opérons de l'ARN ribosomal. Ceux-ci codent les gènes 16S-23S-5S. Les gènes 16S et 23S sont séparés par une région intergénique (non-codante) de taille variable. La technique du ribotypage consiste à amplifier par PCR ces régions intergéniques qui varient donc en nombre et en longueur. Les amorces choisies permettent une amplification depuis un segment du gène du 16S jusqu'à un autre du 23S. Les amplicons obtenus sont analysés par électrophorèse capillaire sur un séquenceur. La figure 1 montre un exemple de profil ainsi obtenu. Un logiciel d'analyse des tracés et d'interprétation est utilisé pour classifier les souches (GeneMapper).

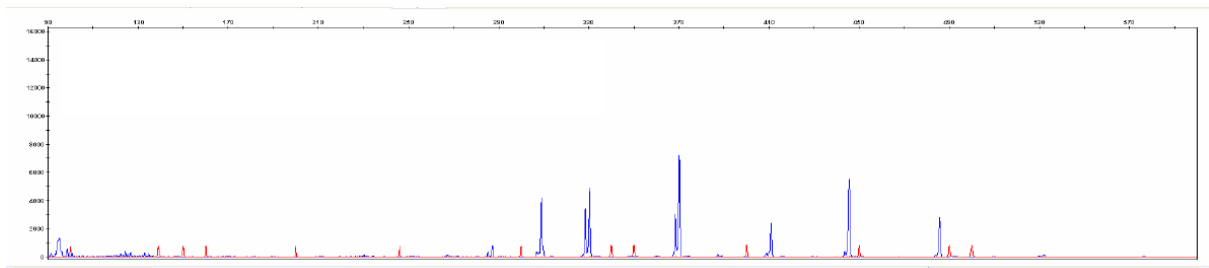


Figure 1. Exemple de tracé obtenu en électrophorèse capillaire pour le ribotypage.

Il existe une collection de souches de référence européennes qui permet de classifier 21 ribotypes. Ceux-ci sont spécifiquement mentionnés dans les rapports. Le tableau 1 reprend la correspondance entre les 21 ribotypes de référence et la nomenclature interne que nous utilisons à l'échelle belge. Dans notre centre de référence, près de cinq cents profils différents (n=485) ont déjà été identifiés.

Lorsque la nomenclature européenne est utilisée le ribotype est indiqué avec le préfixe « BR » tandis que les autres ribotypes ont le préfixe « UCL ».

Tableau 1 Correspondances entre la nomenclature européenne des ribotypes et celle du NRC-CD belge

Ribotype Nomenclature Européenne (Brazier)	Ribotype Nomenclature UCL
001	23e
002	32*
003	49
012	44
014	16
015	23
017	14
020	16a*
023	4
027	027
029	28
053	395
056	55a
070	47
075	141
078	3
081	33
087	24
095	21d
106	48d
131	48c

5.2 Technique MLVA

La technique de typage appelée MLVA (MultiLocus Variable number tandem repeat Analysis) permet une caractérisation différente des souches ce qui permet de distinguer des clones au sein d'un même ribotype. Elle est basée sur l'existence sur le chromosome de *C. difficile* d'une série de séquences d'ADN répétées en tandem situées à de nombreux endroits différents dans le génome bactérien. Ces régions sont appelées loci. Plusieurs de ces loci, choisis pour leur pouvoir discriminant, sont amplifiés et les tailles des amplicons sont mesurées par électrophorèse capillaire.

Lorsque la longueur d'un élément répétitif est connue, on peut calculer le nombre de répétitions. Ceci peut se faire via un logiciel (BioNumerics) qui permet également d'analyser et de visualiser les données sous forme d'un dendrogramme ou sous forme de « Minimum Spanning Tree » (MST).

Cette technique est appliquée en cas d'épidémie hospitalière ou pour suivre les ribotypes les plus répandus en Belgique.



5.3 Résultats

En 2013, 103 sites hospitaliers ont participé au programme de surveillance annuel ce qui est comparable aux taux de participation observés en 2009 et 2010 mais en retrait par rapport à celui de 2012 (111). Nonante-deux laboratoires ont envoyé des souches au premier semestre, 57 au second semestre et 46 laboratoires ont participé aux deux semestres. Depuis 2011, les souches sont classées dans un millésime suivant leur date d'isolement et non plus suivant leur date de réception au laboratoire de référence.

Le Tableau 2 détaille la répartition des laboratoires en fonction du nombre de souches (1 à 10) envoyées dans le cadre de la surveillance annuelle. Un quart des laboratoires a envoyé les cinq souches d'un semestre et un autre quart a envoyé les dix souches de deux semestres.

Tableau 2. Nombres de souches incluses en 2013 par laboratoire

nbr de souches envoyées en 2013	nbr de laboratoires
1	8
2	8
3	9
4	14
5	23
6	4
7	5
8	7
9	2
10	23
Total	103

Au total, 846 souches isolées en 2013 ont été réceptionnées au NRC-CD. Parmi celles-ci, 33 souches n'ont pas été confirmées (autre espèce ou culture impossible). Certains laboratoires ayant dépassé le quota de cinq souches par semestre, seules les cinq premières sont entrées dans les calculs, ce qui a concerné au total 585 souches. Ce nombre reste comparable à celui de l'année précédente, quoi que légèrement en retrait (Tableau 3).

Tableau 3. Nombres de souches incluses dans le programme de surveillance et statistiques des principaux ribotypes.

ECHANTILLONS	2009	2010	2011	2012	2013
N souches reçues et typables dans le cadre de la surveillance	389	505	462	648	585
N souches BR027 (UCL027)	72	62	36	32	22
%	18,5	12,3	7,8	4,9	3,76
N souches BR014 (UCL 16)	44	51	56	67	50
%	11,3	10,1	12,1	10,3	8,55
N Souches BR078 (UCL 3)	13	33	35	48	30
%	3,3	6,5	7,6	7,4	5,13
N Souches BR020 (UCL16a)	20	31	31	56	42
%	5,14	6,14	6,71	8,64	7,18
N Souches BR002(UCL32)	15	21	37	52	36
%	3,86	4,16	8,01	8,02	6,15
N Souches BR070 (UCL 47)				10	29
%				1,54	4,96
N Souches BR106 (UCL 48d)				7	18
%				1,08	3,08

Le ribotypage de ces 585 souches a permis d'identifier 133 ribotypes différents et 72 d'entre eux n'ont été rencontrés qu'une seule fois, 19 deux fois et 10 trois fois. Parmi eux, 60 étaient des ribotypes nouveaux jamais rencontrés auparavant.

Comme indiqué au Tableau 2 et au Tableau 4, le ribotype BR027 poursuit en 2013 une diminution de sa fréquence aussi bien en nombre de souches (22 versus 32 en 2012) qu'en nombre d'hôpitaux touchés (15 versus 19).

Le ribotype BR014 (UCL16) reste, comme en 2011 et 2012, le ribotype le plus fréquemment isolé mais sa fréquence marque une légère diminution par rapport à 2012 (8.8% versus 10.3%) et le nombre de sites touchés est lui aussi en diminution (52 versus 67).

Les ribotypes BR020 (UCL16a), BR002 (UCL32) et BR078 (UCL3) occupent les positions 2 à 4 mais marquent tous une régression par rapport à l'année précédente.

Par contre, plusieurs ribotypes émergent de façon remarquable. Le ribotype BR070 a été isolé 29 fois en 2013 (4.96%) pour 10 fois en 2012 (1.54%) et il a été retrouvé dans 24 hôpitaux différents (versus 10 en 2012). Le ribotype BR106 est lui aussi en augmentation significative avec 18 souches isolées dans 13 hôpitaux différents.



Tableau 4. Participation à la surveillance (par site) et évolution des ribotypes principaux.

PARTICIPATIONS A LA SURVEILLANCE	2009	2010	2011	2012	2013
N hôpitaux (sites différents) ayant envoyé des échantillons pour typage	104	103	84	111	103
N hôpitaux avec BR027 (UCL027)	35	34	17	19	15
%	33,6	33	20,2	17,12	14,56%
N hôpitaux avec BR014 (UCL16)	35	34	32	45	38
%	33,6	33	38	40,54	36,89%
N hôpitaux avec BR078 (UCL 3)	11	26	20	35	25
%	10,6	25,3	23,8	31,53	24,27%
N hôpitaux avec Souches BR020 (UCL16a)				42	29
%				37,84	28,16%
N hôpitaux avec Souches BR002 (UCL32)				39	28
%				35,14	27,18%
N hôpitaux avec Souches BR070 (UCL47)				10	24
%				9,01	23,30%
N hôpitaux avec Souches BR106 (UCL48d)				6	13
%				5,41	12,62%



Les Figures 2 et 3 présentent en graphiques les évolutions des principaux ribotypes en nombre et en pourcentage.

Figure 2. Evolution du nombre de souches appartenant aux principaux ribotypes entre 2009 et 2013.

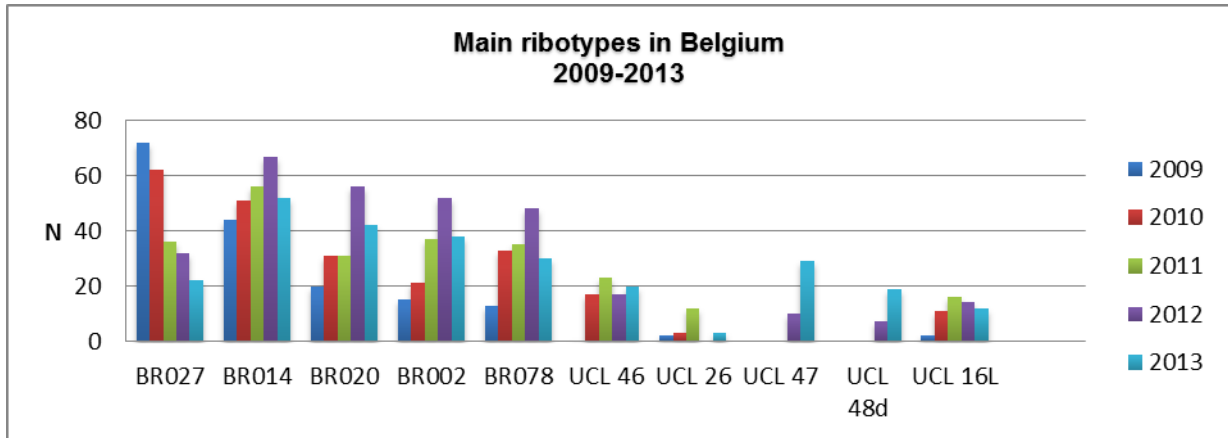


Figure 3. Evolution du pourcentage de souches appartenant aux principaux ribotypes entre 2009 et 2013.

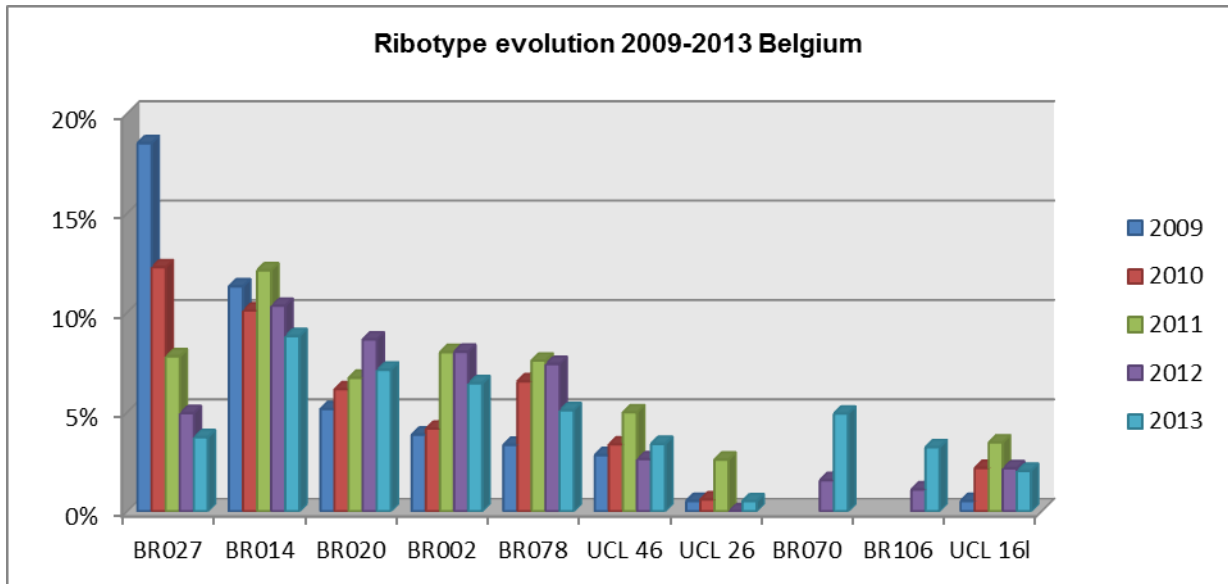




Tableau 5. Evolution de 2010 à 2013 de la fréquence des principaux ribotypes identifiés.

		2010					2011					2012					2013		
		N=505					N=462					N=648					N=590		
	Ribotype	Nbr strains	% strains		Ribotype	Nbr strains	% strains		Ribotype	Nbr strains	% strains		Ribotype	Nbr strains	% strains	Ribotype	Nbr strains	% strains	
0	BR027	62	12,2	1	BR014	56	12,1	0	BR014	67	10,5%	0	BR014	50	8,47%				
0	BR014	51	10,1	4	BR002	37	8	-3	BR020	56	8,8%	0	BR020	42	7,12%				
4	BR078	33	6,5	-2	BR027	36	7,8	-1	BR002	52	8,2%	0	BR002	36	6,10%				
-1	BR020	31	6,1	-1	BR078	35	7,6	0	BR078	48	7,5%	0	BR078	30	5,08%				
-1	BR001	24	4,7	-1	BR020	31	6,7	-2	BR027	32	5,0%	10	BR070	29	4,92%				
-2	BR002	21	4,1	1	UCL 46	23	4,7	0	UCL 46	17	2,7%	-1	BR027	22	3,73%				
1	UCL 46	17	3,36	4	UCL 16L	16	3,3	6	UCL 16b	15	2,4%	2	BR001	20	3,39%				
6	BR023	16	3,10	8	UCL 26	12	2,6	2	BR023	15	2,4%	-1	UCL 46	20	3,39%				
0	UCL 16b	12	2,40	-4	BR001	10	2,1	-2	UCL 16L	14	2,2%	8	BR106	18	3,05%				
3	BR012	12	2,40	-1	BR023	10	2,1	0	BR001	14	2,2%	2	UCL 23f	15	2,54%				
4	UCL 16L	11	2,10	6	UCL 23f	9	2	-3	UCL 33	13	2,0%	-3	BR023	15	2,54%				
0	UCL 5a	10	2,00	-2	BR012	9	2	-1	UCL 23f	12	1,9%	0	UCL 5a	15	2,54%				
-7	BR015	9	1,80	-4	UCL 16b	8	1,7	1	UCL 44	11	1,7%	4	UCL 49	13	2,20%				
-3	UCL 20a	6	1,10	-1	BR015	4	0,87	0	UCL 5a	11	1,7%	-5	UCL 16L	12	2,03%				
-6	UCL 49	5	0,90	-2	UCL 5a	4	0,87	0	UCL 47	10	1,6%	-10	UCL 36a	12	2,03%				
-1	UCL 26	3	0,60	0	UCL 20a	4	0,87	0	UCL 32*	8	1,3%	-1	UCL 44	10	1,69%				
0	UCL 23f	0	0,00	-2	UCL 49	2	0,43	-3	UCL 16r	7	1,1%	-10	UCL 16b	8	1,36%				
								-3	UCL 20a	7	1,1%	0	BR015	8	1,36%				
								-3	BR015	7	1,10%	0	UCL 24	7	1,19%				
								0	UCL 48d	7	1,1%	-3	UCL 36	7	1,19%				
								0	UCL 49	7	1,1%	1	UCL 22	6	1,02%				
									UCL 118	6	0,9%	0	UCL 237	6	1,02%				
									UCL 22	6	0,9%	-10	UCL 33	6	1,02%				
									UCL 36	6	0,9%								

Dans le Tableau 5, les flèches accompagnées d'un nombre indiquent le gain ou la perte de place des différents sérogroupes dans le classement en fréquence.

De façon remarquable également, les ribotypes les plus fréquents sont retrouvés dans la plupart des régions du pays (Tableau 6)

Tableau 6. Répartition par provinces des principaux ribotypes.

Rybotypes	BR027	BR014	BR070	BR106
Anvers	4	9	1	1
Brabant Flamand		2	2	1
Brabant Wallon		2	1	
Bruxelles	1	14	8	8
Flandre Occidentale	5	4	3	2
Flandre orientale	3	4	5	
Hainaut	2	3		
Liège	7	5	7	9
Limbourg		4		
Luxembourg		0		
Namur		2	2	



5.4 Conclusions

L'année 2013 a confirmé une stabilisation dans le processus d'envoi des souches par les différents laboratoires. Cela doit être souligné et tous les laboratoires participants sont félicités.

La tendance au déclin du ribotype 027 se confirme et c'est une observation qui est faite dans d'autres pays comme la Hollande et la Grande-Bretagne. D'après une étude européenne récemment présentée à l'ECCMID 2014 par K. Davies et al., le ribotype BR027 reste cependant le plus fréquent en Europe où il totalisait 18.4% d'une série de 1211 souches collectées un même jour dans 20 pays européens. Mais alors qu'il était dominant en Belgique et dans les pays limitrophes, il est maintenant devenu prépondérant en Allemagne, en Hongrie, en Pologne et en Roumanie.

Le ribotype BR106 dont la fréquence augmente chez nous cette année est un ribotype qui était le deuxième en fréquence en Grande-Bretagne en 2007 et 2008 mais qui a décliné depuis lors (http://www.hpa.org.uk/webc/HPAwebFile/HPAweb_C/1317140658750). La toxine binaire n'est pas présente chez ces souches.

La surveillance nationale montre enfin que les différents ribotypes sont généralement répartis sur l'ensemble du territoire sans focalisation particulière de certains d'entre eux à une ville ou une région.



6 References

- (1) Wilcox M. C. difficile Infection: EUCLID Study Reveals >39K Cases May Be Missed Yearly. presented in Barcelona 2014.
- (2) European Centre for Disease Prevention and Control. Point prevalence survey of healthcare-associated infections and antimicrobial use in European acute care hospitals 2011-2012. 2013 Jul. <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/healthcare-associated-infections-antimicrobial-use-PPS.pdf> Date accessed 3-4-2014
- (3) Magill SS, Edwards JR, Bamberg W, Beldavs ZG, Dumyati G, Kainer MA, et al. Multistate point-prevalence survey of health care-associated infections. *N Engl J Med* 2014 Mar 27;370(13):1198-208.PM:24670166
- (4) 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 Oct 25;173(9):1037-42.PM:16179431
- (5) Zilberberg MD, Shorr AF, Kollef MH. Increase in adult *Clostridium difficile*-related hospitalizations and case-fatality rate, United States, 2000-2005. *Emerg Infect Dis* 2008 Jun;14(6):929-31.PM:18507904
- (6) Lyytikäinen O, Turunen H, Sund R, Rasinpera M, Kononen E, Ruutu P, et al. Hospitalizations and deaths associated with *Clostridium difficile* infection, Finland, 1996-2004. *Emerg Infect Dis* 2009 May;15(5):761-5.PM:19402963
- (7) 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 Sep 24;366(9491):1079-84.PM:16182895
- (8) Kuijper EJ, Coignard B, Brazier JS, Suetens C, Drudy D, Wiuff C, et al. Update of *Clostridium difficile*-associated disease due to PCR ribotype 027 in Europe. *Euro Surveill* 2007 Jun;12(6):E1-E2.PM:17991399
- (9) Joseph R, Demeyer D, Vanrenterghem D, van den BR, Kuijper E, Delmee M. First isolation of *Clostridium difficile* PCR ribotype 027, toxinotype III in Belgium. *Euro Surveill* 2005 Oct;10(10):E051020.PM:16790888
- (10) Jones AM, Kuijper EJ, Wilcox MH. *Clostridium difficile*: a European perspective. *J Infect* 2013 Feb;66(2):115-28.PM:23103666
- (11) 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 Nov;13(11):1048-57.PM:17850341
- (12) Viseur N, Lambert M. Epidémiologie des infections à *Clostridium difficile* en Belgique: Rapport 2012. Institute Scientifique de Santé Publique (WIV-ISP), Bruxelles; 2012. https://www.wiv-isp.be/nsih/surv_cdif/results_fr.asp Date accessed 3-6-2014



- (13) Public Health England. Clostridium difficile Ribotyping Network (CDRN) for England and Northern Ireland. 2014 Jan. Report No.: PHE publications gateway number: 2013396.
http://www.hpa.org.uk/webc/HPAwebFile/HPAweb_C/1317140658750 Date accessed 4-4-2014
- (14) Leiden University Medical Center DoMM, Center for Infectious Diseases Control (CIb) RB. Seventh Annual Report of the National Reference Laboratory for Clostridium difficile and results of the national surveillance May 2012 to May 2013. Date accessed 4-4-2014
http://www.rivm.nl/dsresource?objectid=rivmp:211067&type=org&disposition=inline&ns_nc=1
- (15) Walker AS, Eyre DW, Wyllie DH, Dingle KE, Griffiths D, Shine B, et al. Relationship between bacterial strain type, host biomarkers, and mortality in Clostridium difficile infection. Clin Infect Dis 2013 Jun;56(11):1589-600.PM:23463640
- (16) Dubberke ER, Carling P, Carrico R, Donskey CJ, Loo VG, McDonald LC, et al. Strategies to Prevent Clostridium difficile Infections in Acute Care Hospitals: 2014 Update. Infect Control Hosp Epidemiol 2014 Jun;35(6):628-45.PM:24799639
- (17) Nationales Referenzzentrum fuer Surveillance von Nosocomialen Infektionen. CDAD-KISS: Surveillance-Protokoll. Robert Koch Institute, Germany; 2012 Jan. <http://www.nrz-hygiene.de/surveillance/kiss/cdad-kiss/> Date accessed 18-5-2014
- (18) Bauer MP, Notermans DW, van Benthem BH, Brazier JS, Wilcox MH, Rupnik M, et al. Clostridium difficile infection in Europe: a hospital-based survey. Lancet 2011 Jan 1;377(9759):63-73.PM:21084111
- (19) Vital signs: preventing Clostridium difficile infections. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2012 Mar 9;61(9):157-62.PM:22398844
- (20) Wilcox MH, Mooney L, Bendall R, Settle CD, Fawley WN. A case-control study of community-associated Clostridium difficile infection. J Antimicrob Chemother 2008 Aug;62(2):388-96.PM:18434341
- (21) CDC. Severe Clostridium difficile-associated disease in populations previously at low risk -four states, 2005. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2005 Dec 2;54(47):1201-5.PM:16319813
- (22) Surveillance for community-associated Clostridium difficile--Connecticut, 2006. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2008 Apr 4;57(13):340-3.PM:18385641
- (23) Settle C, Kerr KG. Diarrhoea after broad spectrum antimicrobials. BMJ 2011;342:d3798.PM:21708921
- (24) Eyre DW, Cule ML, Wilson DJ, Griffiths D, Vaughan A, O'Connor L, et al. Diverse sources of C. difficile infection identified on whole-genome sequencing. N Engl J Med 2013 Sep 26;369(13):1195-205.PM:24066741



- (25) Walker AS, Eyre DW, Wyllie DH, Dingle KE, Harding RM, O'Connor L, et al. Characterisation of *Clostridium difficile* hospital ward-based transmission using extensive epidemiological data and molecular typing. *PLoS Med* 2012 Feb;9(2):e1001172.PM:22346738
- (26) Curry SR, Muto CA, Schlackman JL, Pasculle AW, Shutt KA, Marsh JW, et al. Use of multilocus variable number of tandem repeats analysis genotyping to determine the role of asymptomatic carriers in *Clostridium difficile* transmission. *Clin Infect Dis* 2013 Oct;57(8):1094-102. PM:23881150
- (27) Donskey CJ. *Clostridium difficile*--beyond the usual suspects. *N Engl J Med* 2013 Sep 26;369(13):1263-4.PM:24066748
- (28) European Centre for Disease Prevention and Control. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the treatment guidance document for *Clostridium difficile* infection. *Clin Microbiol Infect* 2014 Mar;20(Suppl 2).
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1469-0691.12418/full> Date accessed 3-4-2014
- (29) Planche TD, Davies KA, Coen PG, Finney JM, Monahan IM, Morris KA, et al. Differences in outcome according to *Clostridium difficile* testing method: a prospective multicentre diagnostic validation study of *C difficile* infection. *Lancet Infect Dis* 2013 Nov;13(11):936-45.PM:24007915
- (30) World Health Organisation. International Classification of diseases (ICD). <http://www.who.int/classifications/icd/en> 2011 Accessed 2014 May 28
- (31) Belgian Federal Government. Direction générale Statistique et Information économique (DGSIE). http://statbel.fgov.be/en/statistics/organisation/statistics_belgium/ 2013; Accessed 2014 Jun 12
- (32) Institut Scientifique de Santé Publique. SPMA : Standardized Procedures for Mortality Analysis - Belgium/Population. <https://www.wiv-isp.be/epidemie/spma/index.htm> 2014 <https://www.wiv-isp.be/epidemie/spma/index.htm> Last update 2014
- (33) Jans B, Glupczynski Y, Denis O. Surveillance des bactéries résistantes aux antibiotiques dans les hôpitaux belges: Rapport annuel 2012. 2013 Dec.
http://www.nsih.be/surv_mrea/download_fr.asp Date accessed 18-5-2014
- (34) Institut de Veille Sanitaire. Epidémiologie des infections à *Clostridium difficile* en France: Résultats de l'étude ICD-Raisin. <http://www.invs.sante.fr/surveillance/icd/> 2009 <http://www.invs.sante.fr/surveillance/icd/> Last update 2009
- (35) Eckert C, Coignard B, Hebert M, Tarnaud C, Tessier C, Lemire A, et al. Clinical and microbiological features of *Clostridium difficile* infections in France: the ICD-RAISIN 2009 national survey. *Med Mal Infect* 2013 Feb;43(2):67-74.PM:23498135
- (36) US Dept of Health and Human Sciences. *Clostridium Difficile* Infection 2011 to 2012. 2012 Sep 7. Report No.: 2012-01. Date accessed 29-5-2014
http://www.hcup-us.ahrq.gov/reports/projections/CDI_Regional_projections_Final.pdf



- (37) Slimings C, Armstrong P, Beckingham WD, Bull AL, Hall L, Kennedy KJ, et al. Increasing incidence of *Clostridium difficile* infection, Australia, 2011-2012. *Med J Aust* 2014 Mar 17;200(5):272-6.PM:24641152
- (38) Health Protection Agency. Results from the mandatory *Clostridium difficile* reporting scheme. http://www.hpa.org.uk/web/HPAweb&HPAwebStandard/HPAweb_C/1195733750761 2013 September [cited 2014 Apr 4]; Last update 2013 September Accessed 2014 Apr 4
- (39) Health Protection Scotland, NHS National Services Scotland. Healthcare Associated Infection Annual Report 2012. 2013 May. <http://www.documents.hps.scot.nhs.uk/hai/annual-report/healthcare-associated-infection-annual-report-2012.pdf> Date accessed 3-6-2014
- (40) Health Protection Scotland. Quarterly Surveillance Report on the Surveillance of *Clostridium difficile* infection (CDI) in Scotland/revised CDI incidence rates October 2006 up to December 2013. 2014 Apr 2. <http://www.hps.scot.nhs.uk/haic/sshaip/publicationsdetail.aspx?id=50174> Date accessed 3-6-2014
- (41) Nationales Referenzzentrum für Surveillance von Nosokomialen Infektionen. KISS Krankenhaus-Infektions-Surveillance-System Modul CDAD-KISS Referenzdaten. 2013 Apr 16. Report No.: Berechnungszeitraum: 1 Januar 2012 bis 31 Dezember 2012. <http://www.nrz-hygiene.de/surveillance/kiss/cdad-kiss/> Date accessed 4-4-2014
- (42) United States Census Bureau. State and County Quick Facts. 2014 Mar 27. <http://quickfacts.census.gov/qfd/states/00000.html> Date accessed 18-5-2014
- (43) Depistel DD, Aronoff DM. Epidemiology of *Clostridium difficile* infection. *J Pharm Pract* 2013 Oct;26(5):464-75.PM:24064435
- (44) Lessa FC, Gould CV, McDonald LC. Current status of *Clostridium difficile* infection epidemiology. *Clin Infect Dis* 2012 Aug;55 Suppl 2:S65-S70.PM:22752867
- (45) Dellit TH, Owens RC, McGowan JE, Jr., Gerding DN, Weinstein RA, Burke JP, et al. Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America guidelines for developing an institutional program to enhance antimicrobial stewardship. *Clin Infect Dis* 2007 Jan 15;44(2):159-77.PM:17173212
- (46) Northern Ireland Statistics and Research Agency. Deaths Registered with *Clostridium Difficile* Mentioned on the Death Certificate, 2002-2012; Accessed 2014 May 29 <http://www.nisra.gov.uk/demography/default.asp29.htm> Last update 2013
- (47) Office for National Statistics. Deaths Involving *Clostridium difficile*, England and Wales, 2012. <http://www.ons.gov.uk/ons/rel/subnational-health2/deaths-involving-clostridium-difficile/2012/stb-deaths-involving-clostridium-difficile-2012.html> 2013 August 22; Accessed 2014 May 29