

LES ESSENTIELS

dans le diagnostic
des *Infections au*
Clostridioides difficile (ICD)

Réalisé par le

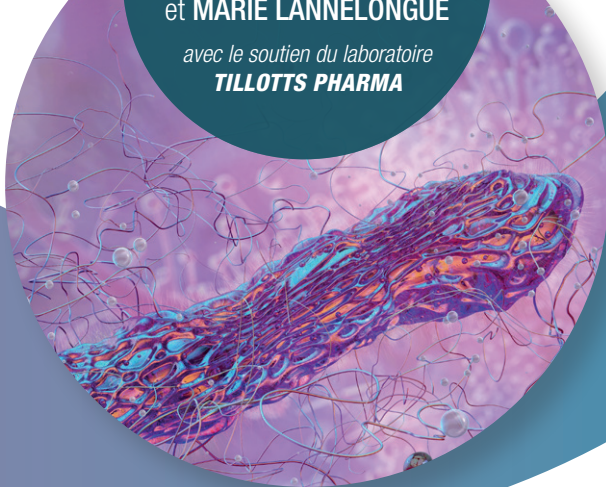
Dr Assaf MIZRAHI

Service de Microbiologie clinique

**Hôpitaux PARIS ST JOSEPH
et MARIE LANNELONGUE**

avec le soutien du laboratoire

TILLOTTS PHARMA





Sommaire

Généralités sur *C. difficile*

Habitat – one health

Colonisation

Facteurs de virulence

Facteurs de risque

Infection à *C. difficile*

Formes d'ICD

Diagnostic bactériologique :
pré-analytique

Diagnostic bactériologique :
principe des tests

Introduction sur les
recommandations diagnostiques

Algorithme diagnostic
(ESCMID)

Cas cliniques

Interprétation des tests

GÉNÉRALITÉS SUR *C. DIFFICILE*



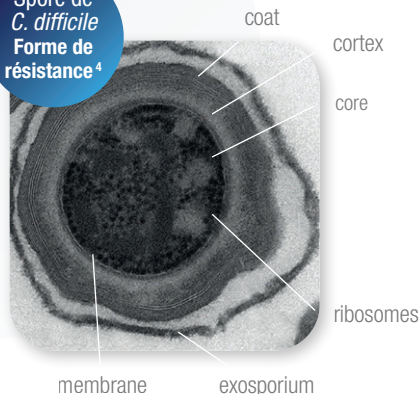
Clostridioides (anciennement *Clostridium*) *difficile* est une bactérie anaérobie stricte appartenant à la famille des *Clostridiaceae*^{1,2}.

La bactérie existe sous deux formes³ :

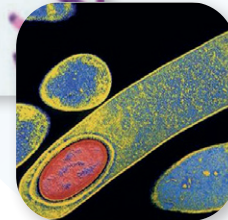
Forme sporulée

Particulièrement résistante et capable de survivre longtemps dans l'environnement³.

Spore de
C. difficile
Forme de
résistance⁴



Observation au microscope électronique par coloration de GRAM du bacille *C. difficile*



Microscopie électronique à transmission colorée de *C. difficile* formant une endospore (rouge)⁵

Forme végétative

Bacille à Gram positif, forme active et responsable des infections³.

Les spores sont très largement retrouvées dans l'environnement et peuvent y persister plusieurs mois⁶.

Ces spores sont résistantes à beaucoup d'éléments physico-chimiques :

🌡️ Température (plusieurs minutes à 70°C)⁷

💧 Déshydratation⁸

🧴 SHA (Solution Hydro-Alcoolique)⁷

☀️ Rayons UV⁸

🕒 Survie des mois dans l'environnement⁶

HABITAT – ONE HEALTH

Clostridioides difficile est présent dans **divers environnements : sols, eaux, surfaces hospitalières**, et chez **les animaux domestiques ou d'élevage (porcs, bovins...)**⁹.

Le concept **One Health** souligne l'interconnexion entre la **santé humaine, animale et environnementale**, démontrant que les spores de *C. difficile* peuvent se transmettre entre ces milieux⁹.

Cette approche permet de comprendre comment les **animaux** et l'**environnement** agissent comme **réservoirs de la bactérie**, contribuant ainsi à sa **propagation**⁹.



Focus sur l'alimentation

D'abord décrites comme retrouvées dans les **viandes** (porc, bœuf, volaille), les spores de *C. difficile* peuvent également être retrouvées dans les **fruits de mer, le lait ou les produits laitiers (beurre), voire les salades**¹⁰.

Une fois ingérées, elles peuvent coloniser l'hôte (mammifères) en se transformant en formes végétatives^{3,9}.

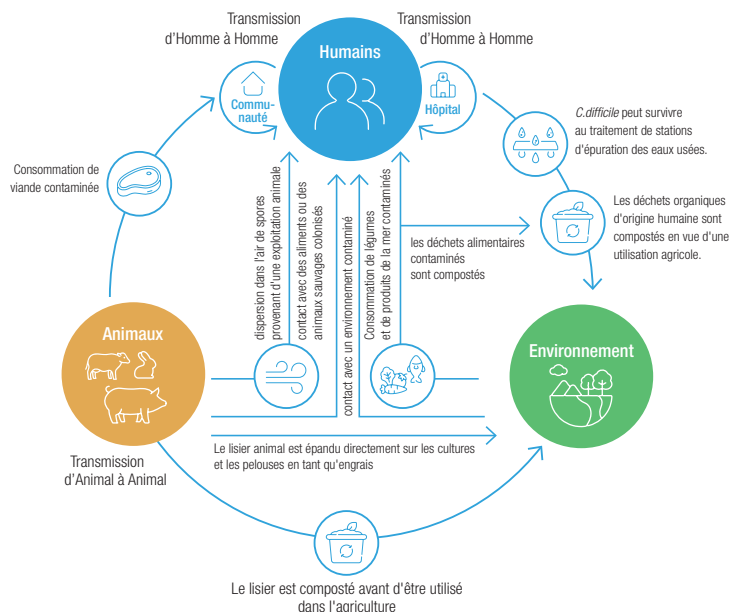
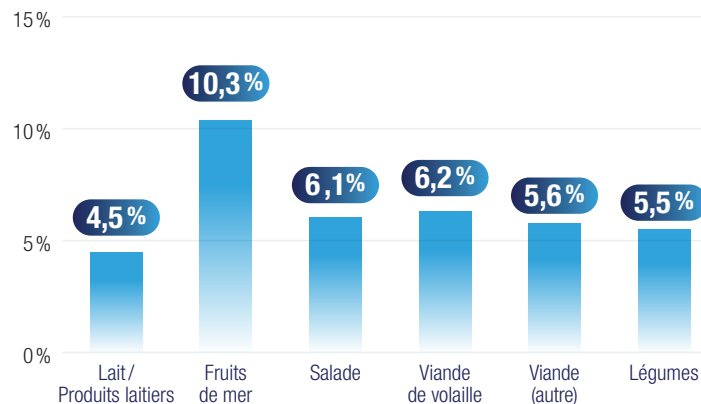


Schéma résumant la transmission du *C. difficile*⁹



Prévalence de *C. difficile* dans les aliments (%)¹⁰

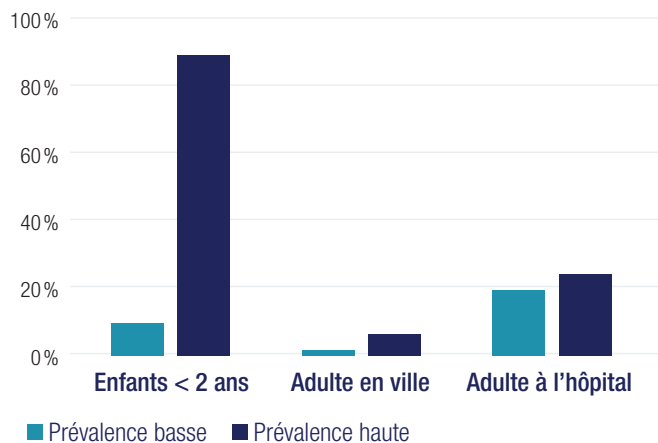
COLONISATION



Les **formes végétatives** sont issues des **spores ingérées** et sont retrouvées **dès l'intestin grêle**. Elles vont pouvoir **coloniser** l'hôte **souvent au niveau du côlon** ¹¹.

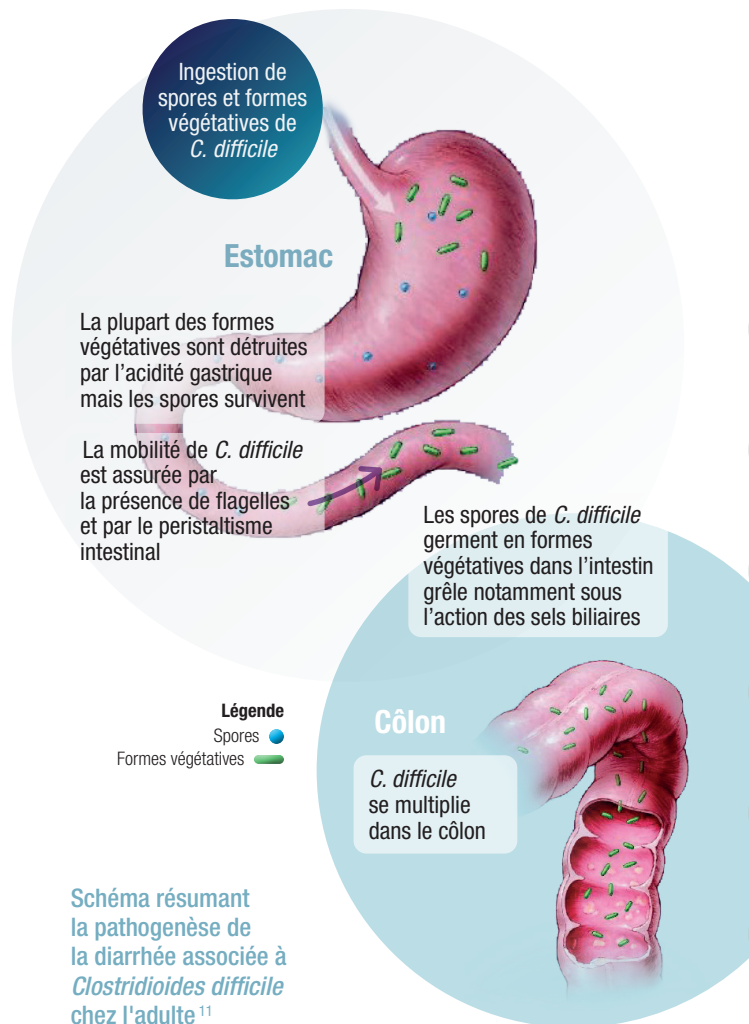
Une fois colonisées, certaines personnes vont rester porteurs **asymptomatiques** = **aucun signe clinique** ¹².

Les **enfants de moins de 2 ans** présentent un **taux de colonisation bien plus élevé** que les adultes ¹³.



Graphique sur le portage asymptomatique de *C. difficile* généré selon plusieurs études ^{12-15, 29}

Chez l'adulte, le portage asymptomatique de *C. difficile* est **plus fréquent à l'hôpital qu'en milieu communautaire** ^{12-15, 29}.



Les spores ingérées vont survivre à l'acidité gastrique et commencer à germer en formes végétatives dès l'entrée dans l'intestin grêle ¹¹.

Les formes végétatives vont parcourir le tube digestif pour coloniser l'hôte principalement au niveau du côlon ¹¹.

FACTEURS DE VIRULENCE

Certaines souches de *C. difficile* peuvent être productrices de toxines = **toxinoogènes** et certaines non = **non-toxinoogènes**^{17,18}.

Il existe **trois toxines** pouvant être produites par *C. difficile*^{17,18}.

Toxine A ou Entérotoxine (TcdA)

→ Cause des dommages à la muqueuse intestinale, provoquant une **inflammation** et une **diarrhée**¹⁸.

Toxine B ou Cytotoxine (TcdB)

→ Cause des dommages cellulaires en perturbant le **cytosquelette** des **cellules épithéliales**¹⁸.

Toxine binaire (CDT) (20 %)

→ Produite par certaines souches **hyper-virulentes**, comme le ribotype 027. Aide à l'**adhésion des bactéries aux cellules épithéliales** et facilite l'**invasion**¹⁹.

- La **majorité** des souches de *C. difficile* produisent les **toxines A et B (A+/B+)**¹⁷.
- De **rare**s souches, comme le ribotype 017, produisent **uniquement la toxine B (A-/B+)**^{16,17}.
- Les souches produisant **seulement la toxine A (A+/B-)** sont encore plus rares¹⁷.

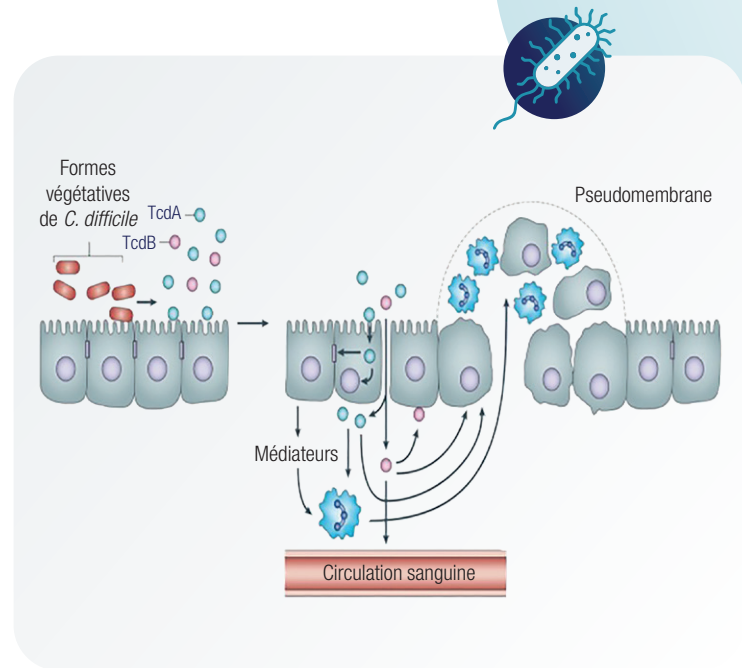


Schéma résumant la pathogénèse du *C. difficile*¹²

C. difficile produit des toxines après avoir colonisé l'hôte au niveau des entérocytes.

Ces toxines vont entraîner un afflux de médiateurs inflammatoires responsables des signes cliniques et dans certains cas de formation de pseudo-membranes¹².

FACTEURS DE RISQUES GÉNÉRAUX D'ICD^{20,21,30}

Âge avancé

Les **personnes âgées**, en particulier celles de **plus de 65 ans**, présentent un risque plus élevé en raison de la diminution des défenses immunitaires et de la fréquence accrue des hospitalisations.



Antécédent d'infection à *C. difficile*

Les **patients ayant déjà souffert d'une ICD** présentent un risque accru de récurrence, avec des taux de réinfection souvent élevés dans les mois suivant le premier épisode.



Hospitalisation prolongée

Le risque d'ICD **augmente avec la durée d'exposition à l'environnement hospitalier**, en particulier dans les unités de soins intensifs, où la contamination par *C. difficile* est plus fréquente.



Antibiothérapie

Facteur classiquement décrit dans les ICD. Les **antibiotiques perturbent le microbiote**, facilitant la colonisation par *C. difficile*.



Utilisation d'inhibiteurs de la pompe à protons (IPP)

L'**utilisation prolongée d'IPP**, qui diminue l'acidité gastrique, favoriserait la survie de spores dans le tube digestif et augmente le risque d'ICD.



Immunosuppression

Les patients sous **traitements immunosuppresseurs** (ex. : chimiothérapie, corticostéroïdes) ou souffrant de maladies auto-immunes sont plus vulnérables aux ICD.



Facteurs de risque de récurrence

Facteurs de risque	Niveau de preuve	Niveau d'évidence
Âge > 65 ans	Fort	Modéré
Antécédent d'ICD	Fort	Modéré
Episode lié aux soins et hospitalisation dans les 3 derniers mois	Faible	Bas
Antibiothérapie systémique concomitante après le diagnostic	Faible	Très bas
Traitement par IPP pendant ou au décours du diagnostic	Faible	Très bas

L'infection à *Clostridioides difficile* (ICD) va plus facilement survenir chez des patients avec des facteurs de risque. Le risque augmente avec le nombre de facteurs de risque.

Les facteurs de risque de récurrence avec les niveaux de preuve les plus élevés sont l'âge > 65 ans et l'antécédent d'ICD.

INFECTION À *C. DIFFICILE*

Définition de l'ICD²⁰ :

Tableau clinique compatible
+ **présence de *C. difficile* toxigène**
+ pas d'autre cause évidente
de diarrhée

Tableau clinique^{20, 22, 28}

Diarrhée aiguë (< 14 jours)

≥ 3 selles molles (Bristol 6-7) en 24h

- **Caractéristiques des selles** : les selles sont souvent aqueuses (55-84%), parfois sanglantes (5-21%).
- **Symptômes associés** : en plus de la diarrhée, certains patients peuvent présenter des douleurs abdominales (6-90% selon les études). La fièvre est également un symptôme courant (21-50% selon les études).
- **Histoire récente** : l'ICD va être favorisée chez les patients avec facteurs de risque.








Type 1		Dur, séparé en morceaux, comme les noix.
Type 2		En forme de saucisse, mais grumeleuse.
Type 3		Comme une saucisse, mais avec des fissures sur sa surface.
Type 4		Comme une saucisse ou un serpent, mais lisse et douce.
Type 5		Morceaux mous aux bords bien définis.
Type 6		Morceaux déchiquetés, agglomérés en une matière pâteuse.
Type 7		Aucun morceau solide. Entièrement liquide.

Tableau résumant l'échelle de Bristol²³

L'échelle de Bristol est un outil qui permet de classer les selles humaines en fonction de leur forme et consistance.

→ Selles diarrhéiques
= Type 6 et type 7²³

FORMES D'ICD²⁰

→ **Forme grave**

Au moins un des critères suivants :

- Fièvre > 38,5 °C
- Leucocytose > 15,10⁹/L
- Créatinine sérique > 50 % valeur de base
- Si imagerie disponible: distension colique, infiltration de la graisse péri-colique, épaissement de la paroi colique

→ **Forme grave ET compliquée**

Au moins un des critères suivants :

Hypotension, choc septique, élévation des lactates sériques, iléus, mégacôlon toxique, perforation intestinale, évolution fulminante

→ **Forme réfractaire**

Absence de réponse au traitement après 3-5 jours

→ **Récidive**

Épisode survenant dans les 8 semaines du 1^{er} épisode après une réponse initiale au traitement

→ **Nouvel épisode**

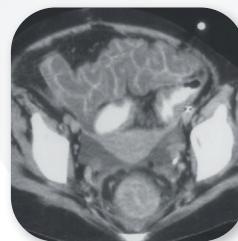
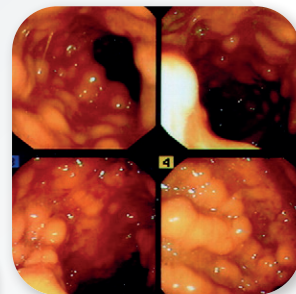
Si nouvel épisode au-delà de 8 semaines, il s'agit d'une nouvelle infection

→ **Complications**

Colites fulminantes, mégacôlon toxique, choc septique

Colite pseudo-membraneuse

Endoscopie



Scanner

signe de l'accordéon

Images endoscopique et de scanner d'une colite pseudo-membraneuse²⁴

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE : PRÉ-ANALYTIQUE

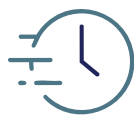
La recherche de *C. difficile* toxinogène doit être **précisée dans la prescription** car elle n'est pas réalisée systématiquement dans les coprocultures standards.



- **Ne pas envoyer pour types 1 à 5 sur l'échelle de Bristol²⁵**

→ **si diagnostic positif sur selles moulées, potentiel reflet d'une colonisation et non d'une infection !**

*Le laboratoire doit annuler la recherche de *C. difficile* sur selles de types 1 à 5.*



- **Envoyer le plus rapidement au laboratoire**
- **Conservation maximale de 24h à + 4 °C**

Risque de faux négatifs si prélèvement mal réalisé (écouvillonnage superficiel) ou acheminement trop tardif.

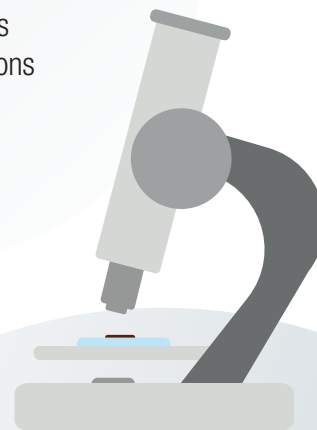
Grâce aux nouveaux outils diagnostiques, les résultats sont désormais rendus en quelques heures après l'arrivée du prélèvement au laboratoire²⁵, hors période de permanence des soins.

Recueillir les selles dans un pot non stérile

→ **À privilégier ++**



Écouvillon rectal teinté possible
Iléus, patients de réanimations



DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE : PRINCIPE DES TESTS

But : mettre en évidence dans les selles

1. La présence de *C. difficile*²⁵

Utilisation de la glutamate déshydrogénase (GDH) : isoenzyme spécifique et discriminante de *C. difficile*

→ Test immunochromatographique

2. La présence d'une ou des toxines²⁵

→ Test immunochromatographique

→ Détection des gènes codant pour les toxines (PCR)

Test immunochromatographique (ICT)

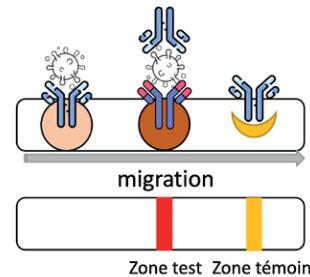
- Permet de détecter un antigène dans un échantillon biologique par des anticorps
- Associé à un contrôle de migration

Test PCR

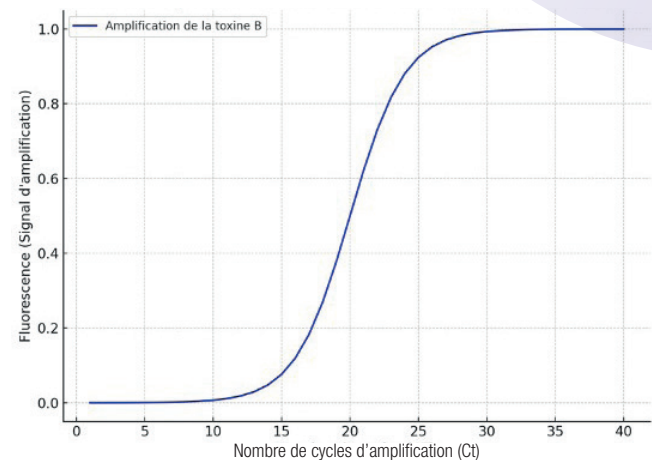
- Permet d'obtenir d'importantes quantités d'un fragment d'ADN spécifique des toxines de *C. difficile*, à partir d'un échantillon pour être facilement détectées

Particularité des tests PCR et ICT

- Tests rapides, réalisables dans la journée
- PCR + coûteuse et + sensible qu'ICT
 - peut refléter une colonisation
- Toxines libres (ICT) : plus spécifiques de l'infection



Principe du test immunochromatographique
et exemple de test positif



Représentation de l'amplification du gène
de la toxine B (tcdB) de *Clostridioides difficile* par PCR.

- L'axe des abscisses (X) indique le nombre de cycles d'amplification (Ct).
- L'axe des ordonnées (Y) représente le signal de fluorescence mesurant l'amplification de l'ADN cible.
- Une courbe ascendante traduit la détection et l'amplification progressive du gène cible.
- Plus le nombre de cycles nécessaires pour atteindre un seuil de détection est faible, plus la quantité initiale de toxine B est élevée.

INTRODUCTION SUR RECOMMANDATIONS DIAGNOSTIQUES²⁵

Les **recommandations ESCMID 2016** ont introduit des changements clés pour **améliorer la précision du diagnostic des infections à *C. difficile***, en réponse aux limitations des méthodes précédentes, notamment l'**utilisation excessive de la PCR**, qui entraînait des **sur-diagnostics**.

Contexte

Avant 2016, il existait une grande hétérogénéité dans l'utilisation des tests diagnostiques pour *C. difficile* à travers l'Europe, ce qui entraînait des sur-diagnostics ou des sous-diagnostics selon les laboratoires.

Les tests PCR, largement utilisés, étaient souvent mal employés en tant que méthode unique, ce qui menait à des faux positifs.

En parallèle, d'autres tests fiables comme la **culture toxigénique** ou les tests de **toxines A et B (EIA)** étaient mal utilisés ou mal combinés.

Principal changement

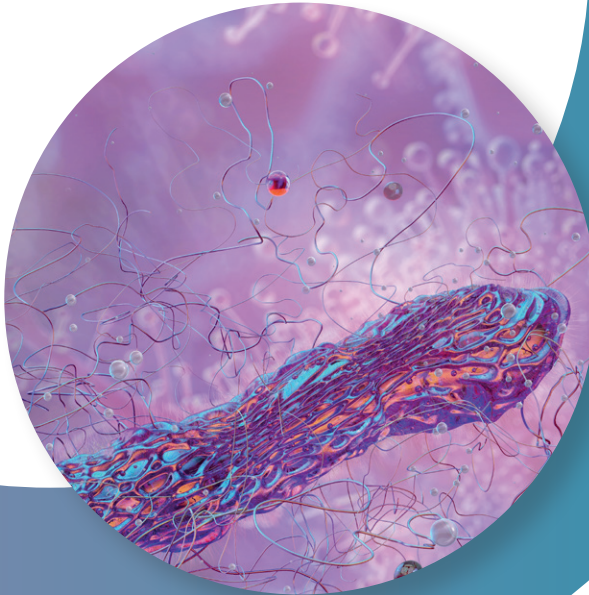
Mise en place d'un algorithme en deux étapes :

- **Réduction de l'usage de la PCR seule**
- **Accent sur la détection des toxines libres**

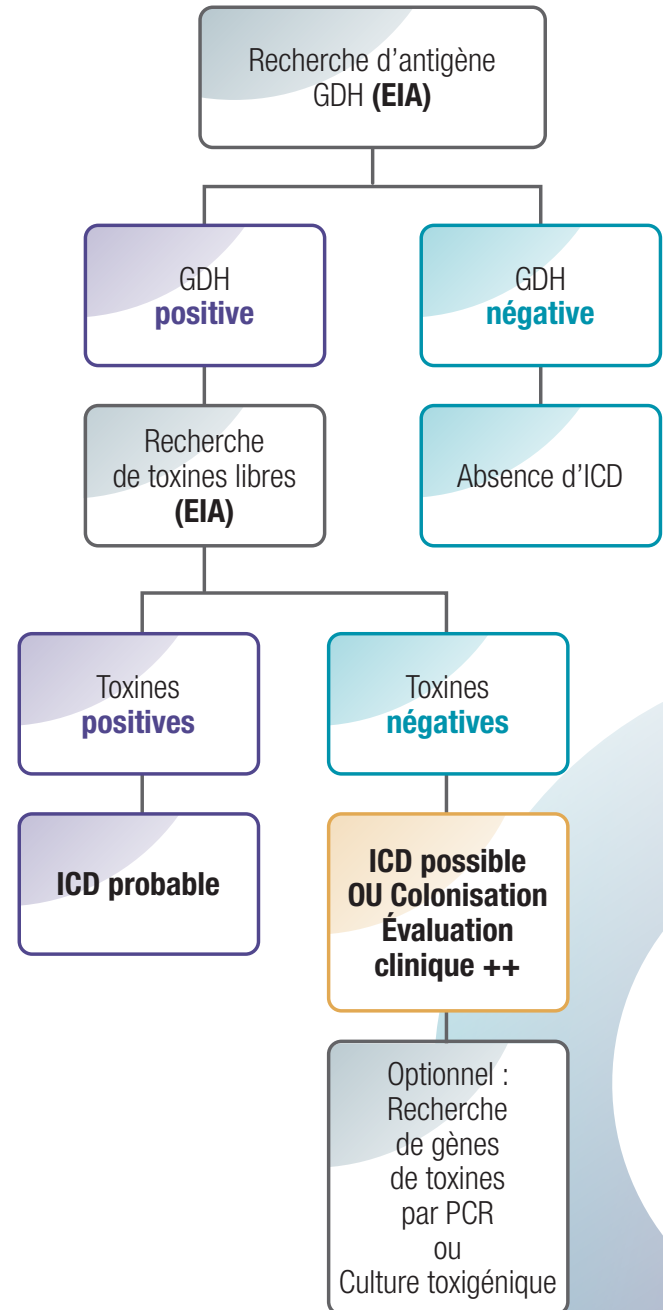
Pourquoi ces changements ?

- **Harmoniser les pratiques** à travers les laboratoires européens,
- **Optimiser** l'utilisation des tests disponibles,
- **Réduire les faux positifs et faux négatifs**, en ne s'appuyant plus uniquement sur la PCR,
- **Améliorer la spécificité et la sensibilité des diagnostics** tout en limitant l'utilisation de tests coûteux ou complexes, comme la culture toxigénique, aux cas spécifiques.

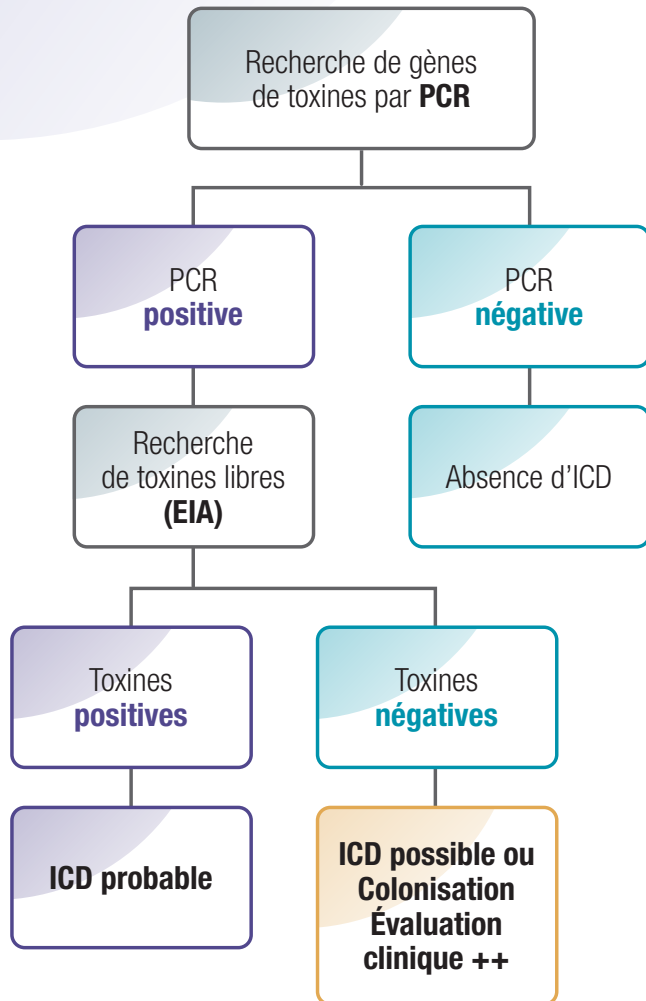
soulevez-ici ↗



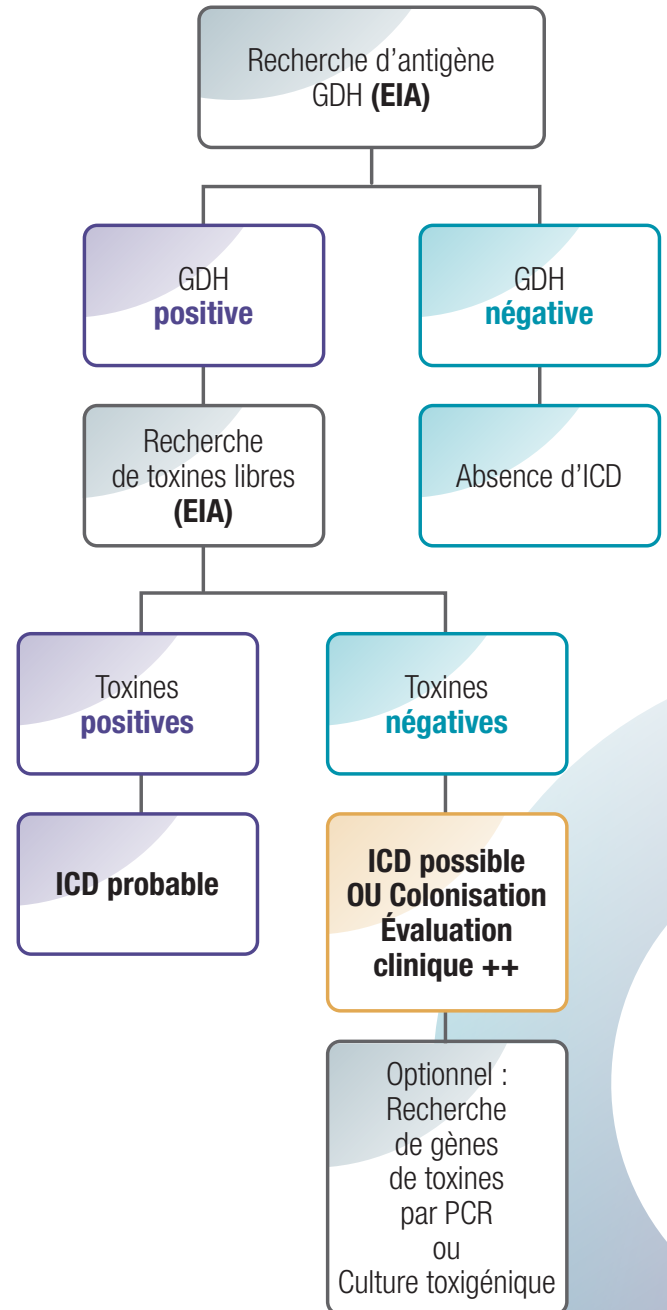
(ESCMID 2016)²⁵



ALGORITHME DIAGNOSTIC



(ESCMID 2016)²⁵



Recherche combinée
d'antigène **(GDH)**
et toxines libres **(EIA)**

GDH
positive
Toxines
positives

**ICD
probable**

GDH
positive
Toxines
négatives

Optionnel :
recherche
de gènes
de toxines
par **PCR**
ou Culture
toxigénique

PCR
négative
Souche NON
toxigène

PCR
positive
Souche
toxigène

**ICD possible
OU Colonisation
Évaluation
clinique ++**

GDH
négative
Toxines
négatives

Absence
d'ICD

CAS CLINIQUES

soulevez-ici ↗

Mr L, 73 ans, est hospitalisé en chirurgie vasculaire pour une amputation trans-tibiale sur ostéite chronique. Il reçoit une beta-lactamine à large spectre en post opératoire pour le traitement de son ostéite. Au décours de son hospitalisation, il présente un dimanche soir une selle diarrhéique très importante avec des douleurs abdominales motivant l'envoi de selles au laboratoire pour recherche de *C. difficile*.

Les premiers résultats révèlent
durant la journée de Lundi :

GDH
positive

Toxines libres
négatives

Ensuite



PCR toxine B
positive

Faut-il conclure directement à une ICD ?

↪ _____

Faut-il répéter le test diagnostic de l'ICD ?

↪ _____

CAS CLINIQUES

Faut-il conclure directement à une ICD ?

→ Même si ce patient a des facteurs de risque (âge > 65 ans, antibiothérapie), il semble nécessaire de confirmer l'ICD par une évaluation clinique. Ce patient n'a pas de diarrhées selon la définition de l'OMS (≥ 3 selles liquides par jour) mais seulement un seul épisode de diarrhées.

Une interrogation sur les autres facteurs de risque doit avoir lieu ainsi qu'une surveillance des selles pour confirmer l'ICD dans un premier temps avant de mettre en place une antibiothérapie ciblant *C. difficile*.

Faut-il répéter le test diagnostic de l'ICD ?

→ Il n'est pas recommandé de répéter le test qui a une bonne valeur prédictive positive²⁵. Il est montré que répéter un test négatif peut augmenter le risque de faux positifs.

Faut-il conclure directement à une ICD ?

→ _____

Faut-il répéter le test diagnostic de l'ICD ?

→ _____



CAS CLINIQUES

soulevez-ici 

Mme R. 63 ans, est hospitalisée en oncologie pour une aplasie fébrile mal tolérée post chimiothérapie. Elle est traitée par un carbapénème car elle est colonisée par une entérobactérie productrice de bêta-lactamase à spectre étendu.

Durant son hospitalisation, elle présente durant plusieurs jours des diarrhées importantes qui ne sont pas considérées dans un premier temps car habituelles.

Un bilan biologique révèle une réascension du syndrome inflammatoire avec une CRP à 83 mg/L et des lactates sanguins à 1 mmol/L.

- Une recherche de *C. difficile* est demandée et met en évidence la présence de la **GDH associée à des toxines libres**.
- Mme R. bénéficie donc d'un traitement anti-*C. difficile* et **s'améliore à J3 et ne rapporte plus de diarrhées**.
- Un test est réalisé à **J10** et revient **toujours positif**.

Que faut-il en conclure ?

S'agit-il d'une rechute ?

[illegible]

CAS CLINIQUES

S'agit-il d'une rechute ?

- La patiente n'a plus du tout de diarrhées à J10, jour de l'arrêt du traitement anti-*C. difficile*.
Il ne s'agit donc pas d'une rechute.
- Il n'est pas recommandé d'effectuer un test pour faire un contrôle de bonne évolution de la maladie. Celle-ci est clinique et biologique sur le syndrome inflammatoire.
Environ 20 % des patients restants colonisés par *C. difficile* > 21 jours après la fin du traitement²⁶.
Un nouveau test doit être réalisé seulement en cas de nouveaux signes cliniques compatibles avec une ICD.

S'agit-il d'une rechute ?

[illegible]



INTERPRÉTATION DES TESTS – CONFRONTATION CLINICO-MICROBIOLOGIQUE



**Doit être conduite pour
chaque résultat positif,
surtout si PCR positive
sans toxines libres**

**Importance ++
de distinguer colonisation
et infection**

→ **Est-ce que le patient a des diarrhées
aigües selon la définition des
recommandations européennes 2021 ?²⁰**

≥ 3 selles/jour, Bristol type 6 ou 7, en 24H

→ **Est-ce qu'il y a un antécédent d'ICD ?**

Il n'est pas recommandé de faire des tests
de contrôle pendant le traitement d'une ICD
car les patients peuvent rester colonisés
après l'infection²⁵

→ Évaluation des autres facteurs de risque
(âge, perturbation du microbiote intestinal,
comorbidités)

→ En l'absence de diarrhées et/ou de
facteurs de risque : intérêt de surveiller
cliniquement le patient (fréquence et type
de selles)

Dépistage et traitement des portages
asymptomatiques délétères
pour le patient car peut augmenter
la durée du portage²⁷

Références

1. Lawson P.A. *et al.* Anaerobe. Reclassification of *Clostridium difficile* as *Clostridioides difficile* (Hall and O'Toole 1935) Prevot 1938. 2016; 40:95-99.
2. Rittmann S.K.-M.R. *et al.* Biotechnology Advances. One-carbon substrate-based biohydrogen production: Microbes, mechanism, and productivity. 2015; 33: 165–177.
3. Serrano M *et al.* Springer Nature. *Clostridioides difficile* Sporulation. 2024.
4. Lawley TD *et al.* JOURNAL OF BACTERIOLOGY. Proteomic and Genomic Characterization of Highly Infectious *Clostridium difficile* 630 Spores. 2009, p. 5377–5386. Vol. 191, No. 17.
5. Aslam S *et al.* Lancet Infectious Disease. Treatment of *Clostridium difficile*-associated disease: old therapies and new strategies. 2005; 5:549-57.
6. Kim KH *et al.* The Journal of infectious diseases. Isolation of *Clostridium difficile* from the Environment and Contacts of Patients with Antibiotic-Associated Colitis. January 1981, VOL. 143, NO.1.
7. Edwards A.N *et al.* Frontiers in Microbiology. Chemical and Stress Resistances of *Clostridium difficile* Spores and Vegetative Cells. 2016; Volume 7 Article 1698.
8. Baloh M *et al.* Journal of Bacteriology. *Clostridioides difficile* SpoVAD and SpoVAE Interact and Are Required for Dipicolinic Acid Uptake into Spores. November 2021 Volume 203 Issue 21.
9. Lim S.C *et al.* Clinical Microbiology and Infection. *Clostridium difficile* and One Health. 2020; 26:857-863.
10. Borji S *et al.* Global prevalence of *Clostridioides difficile* in 17,148 food samples from 2009 to 2019: a systematic review and meta analysis. Journal of Health, Population and Nutrition. 2023; 42:36.
11. Poutanen S.M *et al.* *Clostridium difficile*-associated diarrhea in adults. CMAJ. 2004; 171(1): 51-58.
12. Rupnik M *et al.* *Clostridium difficile* infection: new developments in epidemiology and pathogenesis. Nat Rev Microbiol. 2009; Volume 7.
13. McDonald L.C *et al.* Clinical Practice Guidelines for *Clostridium difficile* Infection in Adults and Children: 2017 Update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA). Clinical Infectious Diseases. 2018; 66(7):e1–e48.
14. Gerding D.N *et al.* The Epidemiology of *Clostridium difficile* Infection Inside and Outside Health Care Institutions. Infect Dis Clin North Am. 2015; 29(1): 37–50.
15. Hall A.J *et al.* The Roles of *Clostridium difficile* and Norovirus Among Gastroenteritis-Associated Deaths in the United States, 1999–2007. Clinical Infectious Diseases. 2012:55.
16. Liu C *et al.*; Insights into the Evolving Epidemiology of *Clostridioides difficile* Infection and Treatment: A Global Perspective; Antibiotics; 2023; 12, 1141.
17. HAS. Argumentaire: Modification de la nomenclature des actes de biologie médicale pour les actes de diagnostic biologique des infections à *Clostridium difficile*. Juillet 2016.
18. Voth D.E *et al.* *Clostridium difficile* Toxins: Mechanism of Action and Role in Disease. Clinical Microbiology Reviews. 2005; p. 247–263 Vol. 18, No. 2.
19. Martinez-Melendez *et al.* An Update on *Clostridioides difficile* Binary Toxin. Toxins 2022, 14, 305.
20. Van Preen J *et al.* Guidelines: European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: 2021 update on the treatment guidance document for *Clostridioides difficile* infection in adults. Clinical Microbiology and Infection. 2021.
21. Di Bella S *et al.* Clinical Microbiology I Review. *Clostridioides difficile* infection: history, epidemiology, risk factors, prevention, clinical manifestations, treatment, and future options. 2024 June. Volume 37 Issue 2.
22. Carius BM *et al.* The American Journal of Emergency Medicine. *Clostridioides difficile* Infection Evaluation and Management in the Emergency Department. 2020 October. Volume 38, Issue 10, Pages 2203-2208.
23. S. J. Lewis & K. W. Heaton. Stool Form Scale as a Useful Guide to Intestinal Transit Time, Scandinavian Journal of Gastroenterology. 1997; 32:9, 920-924, DOI: 10.3109/00365529709011203.
24. Kawamoto S *et al.* Pseudomembranous colitis: spectrum of imaging findings with clinical and pathologic correlation. Radiographics. 1999.
25. Crobach M.J.T *et al.* European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the diagnostic guidance document for *Clostridium difficile* infection. Clinical Microbiology and Infection. 2016; 22:S63-S81.
26. Abujamel *et al.* PLOS ONE. Defining the Vulnerable Period for Re-Establishment of *Clostridium difficile* Colonization after Treatment of *C. difficile* Infection with Oral Vancomycin or Metronidazole. 2013. Volume 8 | Issue 10.
27. Johnson *et al.* Treatment of asymptomatic *Clostridium difficile* carriers (fecal excretors) with vancomycin or metronidazole. A randomized, placebo-controlled trial. Annals of Internal Medicine. 1992 Aug; 117(4):297-302.
28. Organisation mondiale de la santé; Maladies diarrhéiques; 2 mai 2017. <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease>.
29. Jangi S *and al.* Asymptomatic Colonization by *Clostridium difficile* in Infants: Implications for Disease in Later Life, Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, 2010, Volume 51, Number 1.
30. Vindigni S.M and Surawicz C.M. *C. difficile* Infection: Changing Epidemiology and Management Paradigms. Clinical and Translational Gastroenterology. 2015. 6, e99.