

Clostridium difficile

Item ECN concerné :

- **N°172 Diarrhées infectieuses de l'adulte et de l'enfant**

1. Classification

Clostridium difficile est une bactérie de l'ordre des Clostridiales, de la famille des Clostridiaceae et appartenant au genre *Clostridium*.

2. Modes de transmission et épidémiologie

C. difficile est un bacille à Gram positif anaérobie strict qui a la capacité de sporuler. Cette bactérie est retrouvée dans l'environnement (sol, eau) ainsi que dans l'intestin de l'homme et de celui de nombreuses espèces animales.

La transmission de *C. difficile* se fait par voie féco-orale, par l'intermédiaire de l'environnement et des mains du personnel soignant qui peuvent être souillées après un contact avec un patient atteint d'infection à *C. difficile* (ICD). L'environnement joue un rôle majeur dans la transmission. En effet, les spores sont résistantes aux détergents et désinfectants habituellement utilisés dans les hôpitaux (*i.e.* ammoniums quaternaires) et peuvent persister pendant des semaines voire des mois sur les surfaces inertes (1). La promiscuité des patients, la pression antibiotique, la pression de colonisation et tout retard à la mise en place des précautions contact sont également des facteurs qui favorisent la transmission de *C. difficile*.

Epidémiologie

L'épidémiologie des ICD a considérablement changé depuis le début des années 2000. Une augmentation des formes sévères d'ICD et des épidémies de grande ampleur ont d'abord été observées en Amérique du Nord (2,3). Ces épidémies ont été associées à l'émergence d'un clone de PCR-ribotype 027 peu fréquent jusque-là (4). Il a rapidement disséminé dans plusieurs hôpitaux européens, notamment dans le Nord de la France où la première épidémie a été décrite en 2006. D'autres épidémies ont été rapportées ces dernières années en Bretagne et en région Provence-Alpes Côte d'Azur (5). Ce clone a disséminé sur l'ensemble du territoire français et demeure actuellement endémique dans les établissements de santé du Nord (6). En Europe, le PCR-ribotype 027 est toujours le principal PCR-ribotype retrouvé (18% des souches isolées chez les patients hospitalisés en Europe) (7). L'étude nationale conduite en 2009 (étude ICD-RAISIN) avait montré que l'incidence des ICD dans les établissements de santé (ES) français était de 2,28 pour 10 000 journées d'hospitalisation (JH) en court séjour (6). En 2013, l'incidence retrouvée était de 3,6 pour 10 000 JH en France (étude EUCLID, European, multi-centre, prospective bi-annual point prevalence study of *Clostridium difficile* infection in hospitalised patients with diarrhoea) (8), incidence plus basse que la moyenne européenne (7,9 pour 10 000 JH). L'incidence des ICD augmente régulièrement depuis 10 ans (données nationales du programme de médicalisation des systèmes d'information (PMSI). Cette évolution est probablement liée à une vraie augmentation des ICD mais aussi à l'amélioration des méthodes de diagnostic et à une plus grande vigilance des cliniciens qui vont prescrire plus systématiquement la recherche de *C. difficile* en cas de diarrhées nosocomiales (Coignard et al. RICA1 2012). L'enquête nationale de prévalence des infections associées aux soins (IAS) réalisée en 2012 montre que *C. difficile* est au 9^e rang des IAS (<http://www.invs.sante.fr/content>). En Europe, (européenne de prévalence des infections associées aux soins (IAS) réalisée en 2011-2012), les infections gastro-intestinales nosocomiales représentaient 7,7% des IAS et 48% de ces infections sont dues à *C. difficile* (http://www.ecdc.europa.eu/en/press/news/Lists/News/ECDC_DispForm.aspx?List=32e43ee

[8-e230-4424-a783-85742124029a&ID=945](#)). La mortalité attribuable était de 3% (soit 3 700 décès attribuables par an).

C. difficile est largement considéré comme une bactérie responsable d'infections nosocomiales, pourtant des formes communautaires, chez des patients considérés jusque-là comme à faible risque (patients jeunes, femmes enceintes, patients sans antécédent d'hospitalisation ou d'antibiothérapie), sont de plus en plus souvent rapportées (9,10).

L'impact des ICD en termes de surcoût est élevé, celui-ci a été estimé en 2013 en France à 9024€ par épisode et est principalement lié à la prolongation de l'hospitalisation, aux traitements spécifiques ainsi qu'aux mesures de contrôle de l'infection mises en place (11).

3. Physiopathologie

Plusieurs étapes interviennent de façon concomitante ou successive dans la survenue d'une ICD. La diminution de la résistance à la colonisation constitue la première étape du développement d'une ICD. Cette perturbation du microbiote intestinal (ou dysbiose intestinale) est classiquement liée à la prise d'antibiotiques.

La dysbiose intestinale va permettre à *C. difficile* de coloniser le tube digestif et de s'y multiplier. Cette étape implique divers facteurs de virulence de *C. difficile* : adhésines, enzymes hydrolytiques et protéolytiques (12). Une fois implantées, les souches pathogènes de *C. difficile* vont le plus souvent produire deux toxines, la toxine A (entérotoxine ou TcdA) et la toxine B (cytotoxine ou TcdB), qui agissent en synergie. Seules les souches toxigènes sont pathogènes. Ces toxines sont à l'origine d'une réaction inflammatoire intense aboutissant à la nécrose des entérocytes. TcdA et TcdB sont codées respectivement par les gènes *tcdA* et *tcdB* situés sur un locus de pathogénicité appelé PaLoc. Ce PaLoc contient également un gène régulateur positif de la transcription (*tcdR*), un répresseur de la transcription (*tcdC*), ainsi que le gène *tcdE* dont le rôle est encore mal connu (13,14). Des données récentes basées sur l'utilisation de mutants isogéniques de la souche épidémique 027 dans le modèle de colite du hamster ont montré que les 2 toxines A et B étaient capables d'entraîner le décès des animaux (15). Certaines souches ne produisent que la toxine B (toxine A-négative, toxine B-positive ou A⁻B⁺) ; ces souches peuvent être à l'origine d'épidémies et leur prévalence est variable selon les pays.

Une troisième toxine, la toxine binaire ou ADP-ribosyl transférase spécifique de l'actine, a été découverte par l'équipe du Dr M.R. Popoff à la fin des années 80 (16). Cette 3^e toxine est codée par les gènes *cdtA* et *cdtB*, localisés au niveau du locus CdtLoc, locus éloigné de celui codant les toxines A et B. Cette toxine binaire est retrouvée chez environ 15 à 20% des souches toxigènes de *C. difficile* (18,4% des souches toxigènes possédaient les gènes codant la toxine binaire lors de l'étude nationale LuCID 2014-2015) (Poster 350 RICAI 2015). Le rôle de cette toxine n'est pas encore complètement élucidé mais elle pourrait potentialiser les effets des toxines A et B et serait un facteur de virulence supplémentaire. Les souches 027, qui ont été à l'origine des épidémies de grande ampleur, produisent cette toxine binaire.

Enfin, il est maintenant établi que la réponse immunitaire joue un rôle prépondérant dans la survenue d'une ICD. Les travaux de Kyne *et al.* ont mis en évidence le rôle des anticorps sériques dans la survenue des ICD et dans les récurrences (17,18).

Facteur de risque

Les principaux facteurs de risque d'ICD sont l'âge supérieur à 65 ans, les antécédents d'hospitalisation et la prise d'antibiotiques (19,20). Tous les antibiotiques peuvent entraîner une ICD, excepté les aminosides par voie parentérale. Une seule dose peut suffire à déclencher une ICD (par exemple après une antibioprophylaxie chirurgicale) mais le risque augmente avec la durée du traitement. Certaines ICD ont été décrites après chimiothérapie notamment après des cures de méthotrexate, de doxorubicine, de cyclophosphamide ou de 5-fluorouracile. De manière générale, tous les facteurs qui entraînent une modification de l'écosystème digestif ou de la motilité intestinale (laxatifs, lavements barytés, anti-acides, ralentisseurs du transit, chirurgie gastro-intestinale) peuvent potentiellement favoriser la survenue d'une ICD. Le rôle des inhibiteurs de pompe à protons longtemps controversé, semble se confirmer. Ont été également identifiés comme facteurs de risque, ceux qui favorisent l'acquisition nosocomiale de la bactérie : hospitalisation prolongée ou répétée, densité importante en soins, promiscuité des patients ou pression de colonisation (21). Plus de deux tiers des ICD surviennent chez des patients âgés de plus de 65 ans. Les raisons d'une plus grande prédisposition à la colonisation chez les patients âgés restent obscures. Elle pourrait être la conséquence des pathologies sous-jacentes plus sévères, d'une diminution de la réponse humorale, d'une modification de la résistance à la colonisation ou être la conséquence d'hospitalisations répétées.

L'administration concomitante d'antibiotiques, l'existence et la sévérité d'une pathologie sous-jacente éventuelle (évaluée par l'index de Horn) et la durée prolongée d'hospitalisation ont été reconnus comme étant des facteurs de risque de récurrence (22). La faible réponse immunitaire après un premier épisode est également prédictive de récurrence. Un patient qui présente une première récurrence a davantage de risque de faire des récurrences ultérieures et multiples.

4. Clinique

C. difficile est responsable de 20 à 25% des diarrhées associées aux antibiotiques, de la quasi-totalité des cas de colites pseudomembraneuses (CPM) et représente le principal entéropathogène responsable de diarrhées associées aux soins (23). Un portage asymptomatique est observé chez moins de 3% de la population générale; ce chiffre augmente si le patient est hospitalisé ou chez les nouveau-nés. Le spectre clinique des ICD est large ; il va de la diarrhée banale post-antibiotique pouvant être spontanément résolutive à la CPM, au mégacôlon toxique, au choc septique voire au décès. La diarrhée post-antibiotique « simple » est généralement modérée à abondante (≥ 3 selles non moulées par jour sans glaires ni sang visibles). Les signes généraux sont le plus souvent absents ou peu marqués de type douleurs abdominales. A l'endoscopie, la muqueuse est normale ou érosive, sans pseudomembrane. *C. difficile* est également responsable de plus de 95 % des CPM. La diarrhée est alors profuse (> 7 selles/j), accompagnée de fièvre (75% des cas), de douleurs abdominales (70% des cas), d'une hyperleucocytose (40% des cas), de déshydratation et d'hypoalbuminémie. A l'endoscopie, des pseudomembranes sont visibles au niveau du colon et/ou du rectum. Les principales complications de la CPM sont la colite aiguë grave et le mégacôlon toxique (diamètre du colon transverse > 6 cm sur le cliché de l'abdomen sans préparation ou à l'examen tomodensitométrique (TDM)), qui doivent faire l'objet d'une prise en charge médico-chirurgicale (24). Ces complications surviennent dans moins de 10 % des cas d'ICD. La colite peut parfois prendre une forme atypique d'iléus sans diarrhée préalable. La mortalité des formes compliquées d'infections (mégacôlon toxique,

perforation digestive, choc septique) peut atteindre 30 à 50 % malgré un traitement approprié. Exceptionnellement, *C. difficile* est responsable d'infections extra-intestinales de type abcès voire de septicémie.

Les récurrences sont définies par un nouvel épisode d'ICD survenant dans les 2 mois suivant le premier épisode. Ces récurrences sont fréquentes (25 %) et posent un véritable défi thérapeutique. Elles sont liées soit à une réinfection dans la moitié des cas (acquisition d'une souche différente de celle responsable du premier épisode d'ICD) soit à une rechute dans l'autre moitié des cas (persistance au niveau du tube digestif de la souche responsable de l'épisode initial malgré un traitement efficace).

5. Diagnostic bactériologique

L'infection à *C. difficile* est définie par un tableau clinique compatible avec l'infection, associé à la preuve microbiologique de la présence dans les selles d'une souche de *C. difficile* productrice de toxines, sans autre cause évidente de diarrhée ou par la présence d'une CPM (25).

Il existe de nombreuses méthodes de diagnostic. Certaines détectent les toxines libres dans les selles : test de cytotoxicité des selles et tests immuno-enzymatiques pour la détection des toxines A et B, ces derniers étant spécifiques mais peu sensibles. D'autres détectent les gènes codant ces toxines (méthodes moléculaires) ou la capacité par la bactérie à produire *in vitro* des toxines (culture toxigénique) ; ces méthodes sont, à l'inverse des précédentes, sensibles mais peu spécifiques car elles dépistent aussi les porteurs « sains » de souches toxigènes. Enfin, il est possible de détecter une enzyme spécifique de *C. difficile*, la glutamate deshydrogénase (GDH) par des méthodes immuno-enzymatiques ou immuno-chromatographiques; de par leur valeur prédictive négative (VPN) très élevée, ces méthodes peuvent être utilisées en test de dépistage permettant d'écartier le diagnostic d'infection en cas de résultat négatif.

Des algorithmes en deux/trois étapes sont actuellement préconisés par les recommandations européennes afin de combiner sensibilité, spécificité, rapidité et coût (26). Ces algorithmes reposent sur l'utilisation d'une méthode sensible de dépistage suivie, en cas de résultat positif, d'une méthode de confirmation plus spécifique. Les algorithmes proposés peuvent être classés en stratégie « optimale » ou « acceptable » selon leur capacité à identifier la présence de souches toxigènes ou les toxines libres dans les selles.

6. Sensibilité aux antibiotiques et traitement

En cas de diarrhée post-antibiotique, l'arrêt de l'antibiotique inducteur s'il est toujours administré ou le remplacement par un antibiotique à moindre risque doit être envisagé quand cela est possible. Dans 15 à 20% des cas, le simple retrait de l'antibiotique incriminé peut suffire à résoudre les symptômes et aucun traitement spécifique n'est alors nécessaire. Il faut corriger les troubles hydro-électrolytiques et éviter tout agent antipéristaltique qui peut favoriser une stase toxinique et aggraver le tableau clinique.

Il n'y a pas d'indication à traiter les porteurs asymptomatiques, car le métronidazole et la vancomycine se sont avérés inefficaces pour éradiquer définitivement ce portage.

L'amélioration des signes cliniques rend compte de l'efficacité du traitement et, pour cette raison, il est déconseillé de réaliser un prélèvement de contrôle. Cette amélioration est

habituellement obtenue après 3 jours de traitement mais peut nécessiter un délai plus long, notamment après un traitement par métronidazole (5 jours).

Des recommandations pour le traitement des ICD ont été actualisées sous l'égide de l'ESCMID (European Society for Clinical Microbiology and Infectious Disease) (25). De façon générale, le choix des traitements est guidé par la présentation clinique et la sévérité de l'ICD.

Le métronidazole administré par voie orale (500 mg 3x/j, 10j) est le traitement de première intention des diarrhées simples et des colites peu sévères à *C. difficile* (A-I).

La vancomycine (125 mg 4x/j, 10j) ou la fidaxomicine (200 mg 2x/j, 10 j) sont des alternatives thérapeutiques (B-I). En cas de formes sévères d'ICD, la vancomycine *per os* (125 mg 4x/j, 10j) est l'antibiotique de choix (A-I). La fidaxomicine (200 mg 2x/j, 10j) est une alternative thérapeutique (B-I) mais aucune étude ne permet de proposer cet antibiotique pour les formes d'ICD menaçant le pronostic vital (D-III). La fidaxomicine correspond à une nouvelle classe d'antibiotique (macrocycle à 18 atomes de carbone). Elle présente l'avantage d'avoir un spectre d'action étroit et de ne pas être absorbée. Elle entraîne donc moins d'effets délétères sur le microbiote intestinal que la vancomycine ou le métronidazole. Enfin la fidaxomicine réduit significativement le taux de rechutes dans le mois qui suit par rapport à la vancomycine.

Les deux antibiotiques préconisés pour le traitement des patients ayant une 1^{ère} récurrence ou les patients à risque élevé de récurrence sont la vancomycine et la fidaxomicine (B-I). La transplantation fécale associée à un traitement antibiotique *per os* constitue la meilleure approche pour le traitement des récurrences multiples (A-I). La transplantation de microbiote fécal consiste à administrer un filtrat de suspension de selles d'un donneur sain à un patient malade, dans l'espoir de reconstituer une microflore de barrière.

Le traitement chirurgical doit être réalisé en cas de perforation colique ou de détérioration clinique avec absence de réponse antibiotique.

7. Prophylaxie-vaccinations

Des recommandations pour la prévention et le contrôle des ICD ont été publiées en mai 2006 par le Comité Technique des Infections Nosocomiales et des Infections Liées aux Soins (http://invs.santepubliquefrance.fr//publications/2006/guide_raisin/). La prévention primaire repose avant tout sur le bon usage des antibiotiques. La diminution de la consommation de certaines classes d'antibiotiques particulièrement à risque d'entraîner une ICD a été corrélée, dans plusieurs études, à une diminution significative de l'incidence des ICD (27,28) . La prévention de la transmission croisée est obtenue grâce à un diagnostic rapide, permettant de mettre en place précocement les mesures d'hygiène. Ces mesures d'hygiène passent par la mise en place de précautions contact, le port des gants, l'isolement en chambre seul, le lavage des mains à l'eau et au savon (les solutés hydro-alcooliques sont inefficaces sur les spores de *C. difficile*), le bionettoyage au moins quotidien de la chambre du patient avec un produit sporicide (eau de javel à 0,5%), l'utilisation de petit matériel à usage unique, Il faut également privilégier l'information des patients et l'éducation du personnel. Enfin, un réseau de laboratoires experts pour le typage de *C. difficile* assure une surveillance nationale des souches impliquées dans les cas d'ICD sévères et/ou épidémiques permettant l'identification du clone 027 ou de tout autre clone associé à une hypervirulence. Un vaccin est actuellement en essai pour la prévention des ICD et des anticorps monoclonaux seront prochainement disponibles pour la prévention des rechutes.

8. Points clefs à retenir

Clostridium difficile est la principale cause des diarrhées infectieuses nosocomiales et des colites associées aux antibiotiques.

Seules les souches toxigènes de *Clostridium difficile* sont pathogènes.

Il est recommandé d'utiliser un algorithme diagnostique en 2 temps comprenant une méthode sensible de screening et un test de confirmation plus spécifique.

Les principaux facteurs de risque d'infections à *C. difficile* sont l'administration d'antibiotiques, l'âge >65 ans, les antécédents d'hospitalisations et les procédures modifiant le microbiote intestinal.

Le traitement de première ligne des formes peu à modérément sévères est le métronidazole. La vancomycine est réservée aux formes sévères. La fidaxomicine, commercialisée depuis 2012 en France, entraîne moins de récurrences que la vancomycine. Le transfert de microbiote fécal est recommandé en cas de récurrences multiples.

Des précautions « contact » doivent être prises pour les patients infectés par *C. difficile*.

Bibliographie

1. Verity P, Wilcox MH, Fawley W, Parnell P. Prospective evaluation of environmental contamination by *Clostridium difficile* in isolation side rooms. *J Hosp Infect.* 2001 Nov;49(3):204–9.
2. O'Connor JR, Johnson S, Gerding DN. *Clostridium difficile* infection caused by the epidemic BI/NAP1/027 strain. *Gastroenterology.* 2009 May;136(6):1913–24.
3. Pépin J, Valiquette L, Alary M-E, Villemure P, Pelletier A, Forget K, et al. *Clostridium difficile*-associated diarrhea in a region of Quebec from 1991 to 2003: a changing pattern of disease severity. *CMAJ Can Med Assoc J J Assoc Medicale Can.* 2004 Aug 31;171(5):466–72.
4. McDonald LC, Killgore GE, Thompson A, Owens RC, Kazakova SV, Sambol SP, et al. An epidemic, toxin gene-variant strain of *Clostridium difficile*. *N Engl J Med.* 2005 Dec 8;353(23):2433–41.
5. Lagier J-C, Dubourg G, Cassir N, Fournier P-E, Colson P, Richet H, et al. *Clostridium difficile* 027 emerging outbreak in Marseille, France. *Infect Control Hosp Epidemiol Off J Soc Hosp Epidemiol Am.* 2013 Dec;34(12):1339–41.
6. 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. *Médecine Mal Infect.* 2013 Feb;43(2):67–74.
7. Davies KA, Ashwin H, Longshaw CM, Burns DA, Davis GL, Wilcox MH, et al. Diversity of *Clostridium difficile* PCR ribotypes in Europe: results from the European, multicentre, prospective, biannual, point-prevalence study of *Clostridium difficile* infection in hospitalised patients with diarrhoea (EUCLID), 2012 and 2013. *Euro Surveill Bull Eur Sur Mal Transm Eur Commun Dis Bull.* 2016 Jul 21;21(29).
8. Barbut F, Rame L, Petit A, Suzon L, de Chevigny A, Eckert C. [Prevalence of *Clostridium difficile* infection in hospitalized patients with diarrhea: Results of a French prospective multicenter bi-annual point prevalence study.]. *Presse Medicale Paris Fr* 1983. 2015 Feb 27;

9. 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.
10. Rupnik M, Wilcox MH, Gerding DN. *Clostridium difficile* infection: new developments in epidemiology and pathogenesis. *Nat Rev Microbiol*. 2009 Jul;7(7):526–36.
11. Le Monnier A, Duburcq A, Zahar J-R, Corvec S, Guillard T, Cattoir V, et al. Hospital cost of *Clostridium difficile* infection including the contribution of recurrences in French acute-care hospitals. *J Hosp Infect*. 2015 Oct;91(2):117–22.
12. Janoir C, Péchiné S, Grosdidier C, Collignon A. Cwp84, a surface-associated protein of *Clostridium difficile*, is a cysteine protease with degrading activity on extracellular matrix proteins. *J Bacteriol*. 2007 Oct;189(20):7174–80.
13. Braun V, Hundsberger T, Leukel P, Sauerborn M, von Eichel-Streiber C. Definition of the single integration site of the pathogenicity locus in *Clostridium difficile*. *Gene*. 1996;181(1–2):29–38.
14. Dupuy B, Govind R, Antunes A, Matamouros S. *Clostridium difficile* toxin synthesis is negatively regulated by TcdC. *J Med Microbiol*. 2008 Jun;57(Pt 6):685–9.
15. Kuehne SA, Collery MM, Kelly ML, Cartman ST, Cockayne A, Minton NP. Importance of toxin A, toxin B, and CDT in virulence of an epidemic *Clostridium difficile* strain. *J Infect Dis*. 2014 Jan 1;209(1):83–6.
16. Popoff MR, Rubin EJ, Gill DM, Boquet P. Actin-specific ADP-ribosyltransferase produced by a *Clostridium difficile* strain. *Infect Immun*. 1988 Sep;56(9):2299–306.
17. Kyne L, Warny M, Qamar A, Kelly CP. Asymptomatic carriage of *Clostridium difficile* and serum levels of IgG antibody against toxin A. *N Engl J Med*. 2000 Feb 10;342(6):390–7.
18. Kyne L, Warny M, Qamar A, Kelly CP. Association between antibody response to toxin A and protection against recurrent *Clostridium difficile* diarrhoea. *Lancet Lond Engl*. 2001 Jan 20;357(9251):189–93.
19. Bignardi GE. Risk factors for *Clostridium difficile* infection. *J Hosp Infect*. 1998;40(1):1–15.
20. Loo VG, Bourgault A-M, Poirier L, Lamothe F, Michaud S, Turgeon N, et al. Host and pathogen factors for *Clostridium difficile* infection and colonization. *N Engl J Med*. 2011 Nov 3;365(18):1693–703.
21. Dubberke ER, Reske KA, Olsen MA, McMullen KM, Mayfield JL, McDonald LC, et al. Evaluation of *Clostridium difficile*-associated disease pressure as a risk factor for *C difficile*-associated disease. *Arch Intern Med*. 2007 May 28;167(10):1092–7.
22. Pépin J, Routhier S, Gagnon S, Brazeau I. Management and outcomes of a first recurrence of *Clostridium difficile*-associated disease in Quebec, Canada. *Clin Infect Dis* 2006 Mar 15;42(6):758–64.
23. Bartlett JG. Narrative review: the new epidemic of *Clostridium difficile*-associated enteric disease. *Ann Intern Med*. 2006;145(10):758–64.
24. Taege AJ, Adal KA. *Clostridium difficile* diarrhea and colitis: a clinical overview. *Cleve Clin J Med*. 1999 Sep;66(8):503–7.
25. Bauer MP, Kuijper EJ, van Dissel JT. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): treatment guidance document for *Clostridium difficile* infection (CDI). *Clin Microbiol Infect*. 2009;15(12):1067–79.
26. Crobach MJT, Planche T, Eckert C, Barbut F, Terveer EM, Dekkers OM, et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the diagnostic guidance document for *Clostridium difficile* infection. *Clin Microbiol Infect*. 2016 Aug;22 Suppl 4:S63-81.

27. Thomas C, Riley TV. Restriction of third generation cephalosporin use reduces the incidence of *Clostridium difficile*-associated diarrhoea in hospitalised patients. Commun Dis Intell Q Rep. 2003;27 Suppl:S28-31.
28. Climo MW, Israel DS, Wong ES, Williams D, Coudron P, Markowitz SM. Hospital-wide restriction of clindamycin: effect on the incidence of *Clostridium difficile*-associated diarrhea and cost. Ann Intern Med. 1998 Jun 15;128(12 Pt 1):989–95.