


Trabajo Fin de Máster:

Papel de la cadena alimentaria en la infección por
Clostridium difficile

Role of the food chain in *Clostridium difficile* infection

Elena Henríquez Remón



Tutor/a: Dra María de los Ángeles Arias Rodríguez.
Área de conocimiento: Medicina Preventiva y Salud Pública
Departamento: Obstetricia y Ginecología, Pediatría, Medicina Preventiva y Salud Pública, Toxicología, Medicina Legal y Forense y Parasitología
Curso: 2022-2023

ÍNDICE:

RESUMEN:	2
1. INTRODUCCIÓN:	3
2. OBJETIVOS:	4
3. MATERIAL Y MÉTODOS:	4
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN:	5
4.1. <i>EPIDEMIOLOGÍA:</i>	5
4.2. <i>PREVENCIÓN Y CONTROL:</i>	12
5. CONCLUSIONES:	13
6. BIBLIOGRAFÍA:	14

RESUMEN:

El *Clostridium difficile* o *Clostridioides difficile* (*C. difficile*) es una bacteria anaeróbica formadora de esporas reconocida como la principal causa de diarrea asociada a antibióticos en pacientes hospitalizados. Sin embargo, en los últimos años, el *C. difficile* es cada vez más común en la comunidad, en pacientes más jóvenes sin antecedentes de hospitalización o tratamiento antibiótico. Esto ha generado una gran preocupación en el ámbito de la salud pública a nivel global, ya que provoca una colitis infecciosa grave con un alto índice de morbilidad y mortalidad. Aunque la vía de transmisión de *C. difficile* en la comunidad actualmente no se conoce, diversos estudios indican que la cadena alimentaria puede ser un factor importante, en donde el medio ambiente, los animales y los productos alimenticios contaminados con esporas de *C. difficile*, pueden ser un posible vehículo para la propagación de la infección.

Palabras clave: *Clostridioides (clostridium) difficile*, cadena alimentaria, epidemiología adquirida en la comunidad, factores de riesgo.

ABSTRACT:

Clostridium difficile or *Clostridioides difficile* (*C. difficile*) is a spore-forming anaerobic bacterium recognized as the leading cause of antibiotic-associated diarrhea in hospitalized patients. However, in recent years, *C. difficile* has become increasingly common in the community, in younger patients with no history of hospitalization or antibiotic treatment. This has generated great concern in the field of public health at a global level, since it causes severe infectious colitis with a high rate of morbidity and mortality. Although the mode of transmission of *C. difficile* across the community is currently unknown, several studies indicate that the food chain may be an important factor, where the environment, animals and food products contaminated with *C. difficile* spores may be a possible vehicle for the spread of infection.

keywords: *Clostridioides (clostridium) difficile*, food chain, epidemiology acquired in the community, risk factors.

1. INTRODUCCIÓN:

Clostridium difficile (*C. difficile*) es un bacilo grampositivo, anaerobio, formador de esporas y productor de toxinas, cuyo nombre oficial se cambió en 2016 a *Clostridioides difficile*, debido a que el nuevo nombre refleja las diferencias taxonómicas entre esta especie y otros miembros del género *Clostridium* (1).

Clostridium difficile (CDI, por sus siglas en inglés) es la causa identificada con mayor frecuencia de diarrea infecciosa adquirida en el hospital por aquellos pacientes que han sido tratados previamente con antibióticos y es el agente causal de la colitis pseudomembranosa con una alta morbilidad y mortalidad (2–4).

Fue descrito por primera vez en 1935 por Hall y O'Toole, tras aislarlo de las heces de un recién nacido, e inicialmente se denominó *Bacillus difficilis* debido a la dificultad de cultivarlo (3,5). En torno al 1-3% de la población general y el 20% de los pacientes hospitalizados son portadores sanos de cepas toxigénicas. Además, más del 50% de los niños menores de 2 años pueden ser portadores asintomáticos de este patógeno, así como diferentes animales (6,7).

Actualmente *C. difficile* es la principal causa de diarrea en pacientes adultos hospitalizados, aunque también se han descrito episodios a nivel comunitario (1,8) en aquellas personas que no presentan el factor de riesgo asociado a la infección por CDI como son: el tratamiento reciente con antibióticos, edad avanzada, comorbilidad significativa u hospitalización previa (9,10).

Varios estudios han respaldado que los animales pueden actuar potencialmente como vectores para la transmisión de la bacteria a los humanos por contacto directo o por transmisión indirecta a través de alimentos crudos o agua contaminada (11,12). Por lo tanto, se sugiere que CDI podría ser considerado como un patógeno transmitido por los alimentos y debería de realizarse más estudios para una mejor comprensión de los factores epidemiológicos y genéticos que contribuyen a la aparición, evolución y propagación de esta bacteria (13,14).

2. OBJETIVOS:

El objetivo principal de este trabajo es estudiar la relación de la infección de *C. difficile* con la cadena alimentaria.

A su vez se encuentran varios objetivos específicos:

- Conocer su epidemiología, reservorio y fuente de infección, el mecanismo de su transmisión, haciendo especial énfasis en el papel de los alimentos y el agua.
- Conocer las principales medidas de prevención y control de la infección por esta bacteria.

3. MATERIAL Y MÉTODOS:

Se realizó una revisión bibliográfica de estudios sobre *C. difficile* como patógeno de transmisión alimentaria, haciendo uso de la base de datos de Medline a través de Pubmed y Google académico.

Se establecieron diferentes criterios para la selección de los diferentes artículos utilizados en este trabajo:

- Criterios de inclusión: se seleccionaron aquellos artículos de revisión y estudios originales que se encontraran publicados entre los años 2013-2023, y que se pudiera disponer el artículo completo para su consulta de forma gratuita, escritos en español e inglés.
- Criterios de exclusión: se descartaron aquellos artículos que no cumplieran con los criterios anteriormente nombrados, los que no se consideraran de interés para la revisión, y aquellos repetidos en más de una búsqueda.

Las palabras clave utilizadas para dicha revisión fueron: *Clostridium difficile* o *Clostridioides difficile*, cadena alimentaria, epidemiología adquirida en la comunidad, factores de riesgo, prevención y control.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

En la *Figura 1* se observan los resultados de la revisión bibliográfica realizada. Se obtuvieron un total de 292 artículos de los cuales tras el análisis de los criterios propuestos y la lectura de los resúmenes se utilizaron 78.

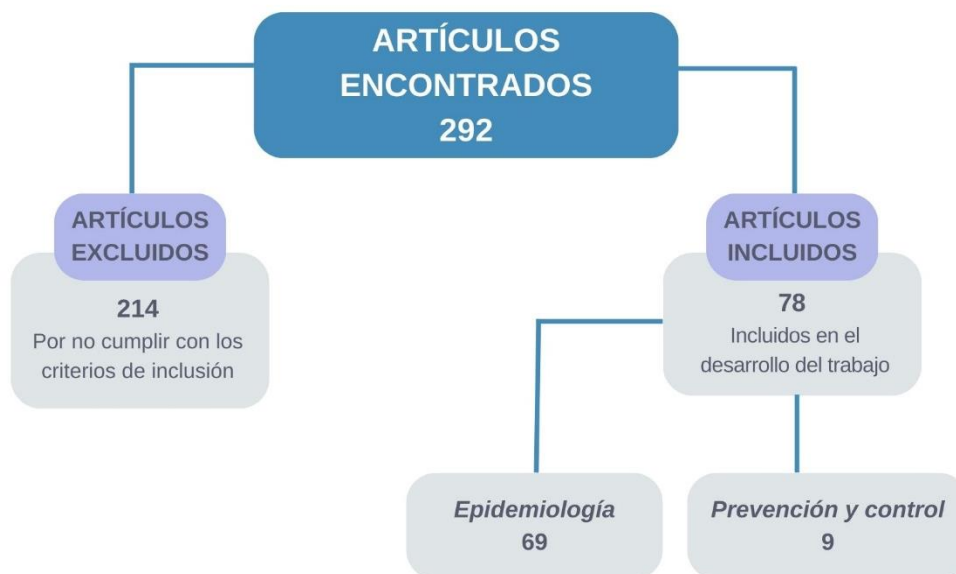


Figura 1. Resultados de la búsqueda bibliográfica.

4.1. EPIDEMIOLOGÍA

El CDI es una bacteria anaerobia Gram positiva, formadora de esporas y es transmitida vía fecal-oral, frecuentemente por contacto con personas infectadas sintomáticas o asintomáticas (1,15).

Los principales factores de virulencia asociados a esta bacteria son 2 citotoxinas de alto peso molecular, la toxina A y la toxina B, que tienen actividad enterotoxigénica y citotóxica (16). En Europa, el incremento de las infecciones por *C. difficile* se ha atribuido a la aparición de cepas pertenecientes a los ribotipos 001, 027, 053, 106 y 078 (los ribotipos más destacados son el 027 y 078), que poseen un mecanismo de hiperproducción de toxinas y son capaces de producir brotes de la enfermedad (17).

La infección por *C. difficile* es oportunista, por lo que en caso de alteración de la microbiota, estas toxinas producen el aumento de la secreción de fluidos y la activación de respuestas inflamatorias, comprometiendo la integridad de la barrera intestinal y dando como resultado la diarrea y colitis, con o sin pseudomembranas (3,18,19).

Tradicionalmente, la infección por *C. difficile* se ha asociado con pacientes que reciben tratamiento antibiótico de amplio espectro en hospitales (2). Sin embargo, a partir del año 2000, la epidemiología de *C. difficile* ha cambiado y diversos estudios destacan que las infecciones adquiridas en la comunidad (infecciones producidas en pacientes que no han pernoctado en un centro sociosanitario en las últimas 12 semanas previas al comienzo de la infección) constituyen en torno al 25% del total de casos de CDI y se dan en pacientes que no presentan los factores de riesgo tradicionales, ya que suele afectar a pacientes jóvenes y sin tratamiento antibiótico (6), en donde se sugiere al medio ambiente, los animales y los alimentos como posibles nuevas vías de transmisión de *C. difficile*. (13).

El origen de *C. difficile* involucrado en las infecciones comunitarias actualmente no es bien conocido, se ha propuesto un vínculo a través de los alimentos, dada la ruta de transmisión fecal-oral. Además, otros clostridios del mismo género como *Clostridium perfringens* y *Clostridium botulinum* son patógenos transmitidos por los alimentos bien establecidos, que apoyarían a *C. difficile* siguiendo las mismas rutas. (12). También cabe destacar, que al contrario de otras enfermedades de transmisión alimentaria causadas por especies del género *Clostridium*, no es necesario el crecimiento de *C. difficile* en el alimento (12,20). Diversos autores han planteado diversas hipótesis considerando su naturaleza anaeróbica obligada, en donde la ingesta de las esporas parece ser la causa más probable (21,22).

En la *Figura 2* se encuentra esquematizado el ciclo infectante o de colonización intestinal de *C. difficile*. Este proceso comienza con la ingestión de esporas, que son resistentes al entorno ácido estomacal y capaces de llegar al intestino grueso. Si se presentan las condiciones apropiadas, como la existencia de sustancias que estimulan el crecimiento y un entorno adecuado (alteración microbiota intestinal), las esporas son capaces de convertirse en su forma vegetal. Si la forma vegetal se multiplica y se establece, se genera una serie de toxinas específicas que son la principal causa de los síntomas, que abarcan desde una diarrea leve o moderada hasta una colitis pseudomembranosa mortal. Además,

durante la infección se inicia el proceso de formación de esporas en un subgrupo de la forma vegetal, las cuales son expulsadas al exterior a través de las heces (21,23,24).

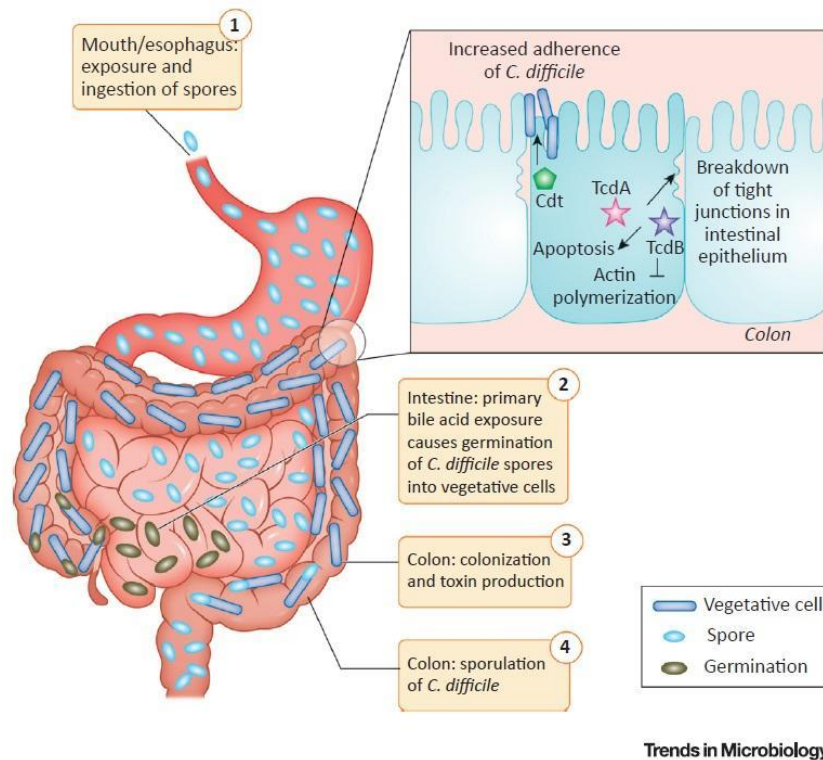


Figura 2. Ciclo infectante o colonización intestinal del *C. difficile*. Fuente: Sandhu et al. 2018.

(24)

Los animales pueden ser los posibles reservorios de este patógeno, y como resultado los productos alimenticios contaminados con sus heces pueden ser un modo de transmisión a los humanos a través de la cadena alimentaria (25). Además, debido a los avances recientes en las tecnologías de secuenciación del genoma completo, se han detectado en algunos artículos cepas toxigénicas genéticamente similares *C. difficile* tanto en humanos como en animales (13,26,27).

Los cerdos son los animales de granja que se han estudiado con mayor frecuencia en Europa con respecto a la CDI, luego le sigue el ganado bovino y las aves de corral (28,29). También se ha estudiado la edad de los animales y se ha visto que los animales recién nacidos, como lechones o terneros, son más frecuentemente colonizados en el intestino con *C. difficile* en los mataderos en comparación con los animales adultos (9,13).

Los ambientes domésticos y los animales de compañía, donde los perros presentan mayor prevalencia que los gatos, también están siendo contaminados/colonizados con *C. difficile*, proporcionando otra ruta más para la transmisión de esta bacteria (29–31).

En la *Tabla 1* se muestran algunos artículos en donde se ha encontrado la presencia de *C. difficile* en animales, tanto domésticos como de granja y salvajes.

Tabla 1. Presencia *C.difficile* en animales de granja, domésticos y salvajes en diferentes países.

Autor/Año	Animal	Prevalencia n° muestras (%)	País
<i>Loo et al. 2016</i> (30)	Perro	1/2 (50)	Canadá
	Gato	1/2 (50)	
<i>Noren et al. 2014</i> (32)	Cerdo	45/67 (67)	Suecia
<i>Lasheras et al. 2017</i> (33)	Salvajes	3/34 (8,5)	España
<i>Lasheras et al. 2018</i> (34)	Perro	90 (6,7)	
<i>Pérez et al. 2017</i> (35)	Perro	105 (4,8)	
<i>Avbersek et al. 2014</i> (36)	Cabra	10/109 (9,2)	Eslovenia
	Oveja	6/105 (5,7)	
<i>Drigo et al. 2015</i> (37)	Conejo	38/1279 (3)	Italia
<i>Rodriguez et al 2015</i> (38)	Caballo	5/134 (3,7)	Bélgica
<i>Diniz et al. 2018</i> (39)	Perro	18/154 (11,9)	Brasil
<i>Rabold et al. 2018</i> (40)	Perro	15/437 (3,4)	Alemania
	Gato	10/403 (2,5)	
<i>Wei et al. 2019</i> (41)	Perro	1/146 (0,7)	China
	Gato	2/29 (7)	
<i>Usui et al. 2016</i> (42)	Perro	61/204 (30)	Japón

Aunque la vía de transmisión de *C. difficile* actualmente no se conoce, diversos estudios indican que la cadena alimentaria puede tener una contribución importante, ya que el medio ambiente, los animales y los productos alimenticios contaminados con esporas de

C. difficile, pueden ser un posible vehículo para la propagación de la infección (27,31). Cada vez hay más evidencia que demuestra que esta bacteria es un patógeno de importancia en el concepto de One Health, en la que hay que relacionar los humanos, animales y ambiente, ya que esta bacteria presenta con una vía de diseminación compleja como se muestra en la *Figura 3* (10).

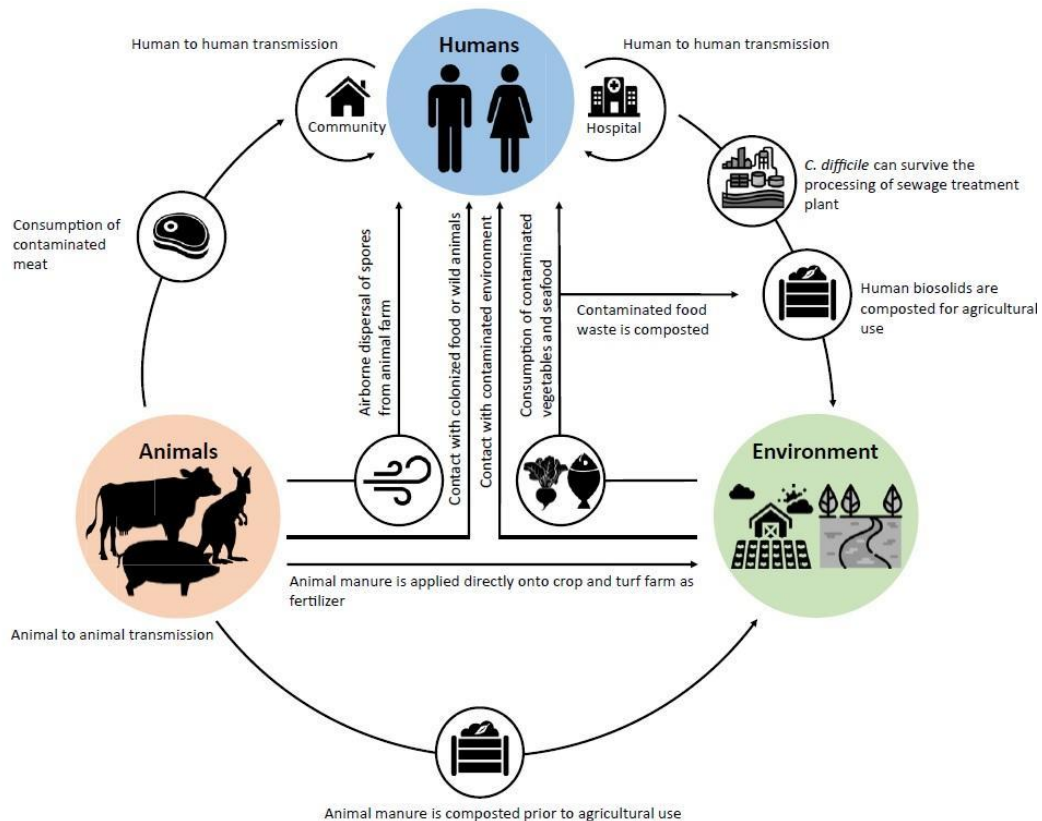


Figura 3. Posible ruta de transmisión del *Clostridium difficile*. Fuente: Lim et al. 2020. (10)

Se sospecha que la descarga ambiental y el reciclaje agrícola de desechos humanos y animales son factores de la diseminación de *C. difficile* en la comunidad. Esta bacteria puede sobrevivir al proceso de tratamiento de aguas residuales y la liberación de efluentes de aguas residuales tratadas las cuales pueden afectar los ríos y mariscos locales. Esta agua puede ser utilizada para regadíos de alimentos que provengan de cultivos, así como afectar aquellos alimentos que provengan del medio marino (43–45).

Recientemente, Lim et al. (46) realizaron un estudio que respalda la creciente hipótesis de que la contaminación ambiental en el agua por *C. difficile* juega un papel fundamental en la transmisión de esta bacteria, donde el 19,2% (5/26) de las cepas humanas compartieron una relación genómica reciente con una o más cepas de agua.

Las heces de animales (caballos, cerdo, vacuno), que son utilizadas como fertilizantes orgánicos tradicionales en los cultivos, puede contaminar las partes comestibles de los productos frescos con esporas de *C. difficile* (47). Por lo tanto, existe la posibilidad de que el uso de estos fertilizantes pueda implicar un riesgo potencial de transferencia de *C. difficile* a la cadena alimentaria, incluso si se siguen buenas prácticas agrícolas (10,48).

Diversos autores han analizado la tasa de aislamiento de esta bacteria en los vegetales, encontrando que los tubérculos estaban contaminados con mayor frecuencia con *C. difficile* que otros tipos de vegetales, lo cual está en concordancia con la afirmación de que el suelo es una fuente de contaminación (49–51).

El CDI de los animales destinados a la alimentación puede contaminar la carne durante el procesamiento en el matadero y sobrevivir hasta el punto de consumo humano. La contaminación de las canales podría estar ocasionada por el derrame del contenido intestinal durante la evisceración y por la acumulación de esporas en el entorno del matadero (48,52).

La prevalencia informada de *C. difficile*, referido a la contaminación en los alimentos, oscila entre el 8 % y el 42 % (9). En diversos estudios se ha identificado el ribotipo 027 en animales (cerdos, vacas y aves de corral), pero el principal ribotipo es el 078 que representa del 75 al 90% de los aislamientos (12,52,53).

Hasta la fecha, *C. difficile* se ha aislado de diferentes fuentes, incluidos los animales destinados al consumo humano o la carne al por menor, así como los mariscos, las verduras y el medio ambiente. La siguiente tabla recoge diversos estudios en donde se ha encontrado la presencia de *C. difficile* en alimentos (Tabla 2).

Tabla 2. Prevalencia de la presencia de *C. difficile* en diversos alimentos en diferentes países.

Autor/Año	Fuente (alimento)	Prevalencia nº muestra (%)	País
<i>Rahimi et al. 2014</i> (54)	Carne de búfalo	6/67 (9)	Irán
	Carne de cabra	3/92 (3,3)	
	Carne de res	2/121 (1,7)	
	Carne de vaca	1/106 (0,9)	
	Carne de oveja	1/150 (0,7)	

Bacheno et al. 2022 (55)	Carne cruda vacuno	2 (2,50)	
	Carne cruda ovino	4 (5)	
	Carne cruda caprino	1 (1,25)	
Yamoudy et al. 2015 (56)	Verduras hojas verdes	3/40 (7,5)	
Varshney et al. 2014 (57)	Carne de res	5/72 (6,9)	Estados Unidos
	Carne de cerdo	9/78 (11,5)	
	Carne de pavo	11/76 (14,5)	
	Carne de pollo	6/77 (7,8)	
Norman et al. 2014 (58)	Mejillón fresco	3/67 (4,5)	
	Salmón congelado	3/67 (4,5)	
Han et al. 2016 (59)	Lechuga	41/297 (13,8)	
Rodríguez et al. 2014 (60)	Vegetales	3/125 (2,4)	
Kouassi et al. 2014 (61)	Carne ternera cocida	19/172 (11)	Costa Marfil
	Carne res cocida	30/223 (13,4)	
Rodríguez et al. 2014 (62)	Carne de res	3/133 (2,3)	Bélgica
	Salchicha de cerdo	5/107 (4,7)	
Gómez et al. 2013 (63)	Carne de res	1/67 (1,5)	Costa Rica
	Carne de cerdo	2/66 (3)	
	Carne de ave	1/67 (1,5)	
Eckert et al. 2013 (64)	Lechuga	3/104 (2,9)	Francia
	Ensalada	3/104 (2,9)	
	Brotos de turba	3/104 (2,9)	
Troiano et al. 2015 (65)	Moluscos	36/925 (3,9)	Italia
Candel et al. 2020 (66)	Moluscos	11/129 (8,5)	España
Candel et al. 2021 (53)	Mollejas de pollo	5/18 (28)	
	Hígado de pollo	1/18 (6)	
Taha et al. 2021 (25)	Carne de vaca	8/60 (13,3)	Arabia Saudí
	Carne de camello	5/60 (8,3)	
	Carne de Cabra	1/60 (1,7)	
	Carne de Oveja	1/60 (1,7)	

<i>Hazarika et al. 2023</i> (67)	Carne de res	4/28 (14,3)	India
	Carne de cerdo	4/25 (16)	
	Carne de pollo	4/28 (14,8)	
	Carne res ahumada	1/20 (5)	
	Carne cerdo ahumada	2/16 (12,5)	
	Pescado fresco	2/10 (20)	
<i>Tan et al 2022</i> (68)	Carne de cerdo	6/500 (1,2)	Canadá
	Carne de ternera	5/116 (3,5)	

Se ha comprobado que las personas o los trabajadores que están frecuentemente expuestos a *C. difficile* en productos alimenticios, (carne cruda, canales o cerdos) en la comunidad o en granjas, tienen riesgo de ser portadores asintomáticos (12,13,69).

En la industria alimentaria, si no se siguen las buenas prácticas de higiene, puede producirse la contaminación de las materias primas y la contaminación cruzada de alimentos, lo que podría dar como resultado la presencia de esporas en los productos finales. (10,70).

A partir del año 2000, se ha comenzado a emplear la trehalosa como aditivo en numerosos alimentos, cosméticos y productos farmacéuticos, y se está investigando como terapia para diversas enfermedades humanas (71). Sin embargo, existe preocupación debido a su capacidad de servir como fuente de carbono para los microorganismos, como se ha evidenciado recientemente al descubrir que puede metabolizarse y aumentar potencialmente la virulencia de *Clostridioides difficile*. En numerosos estudios indican que los ribotipos 027 y 078 son los más detectados (72–75).

4.2. PREVENCIÓN Y CONTROL

La prevención y control de *C. difficile* es complicada debido a la resistencia de sus esporas, tanto en el medio ambiente como en los alimentos, ya que resisten a los tratamientos durante el procesado en las industrias alimentarias y a los desinfectantes comúnmente utilizados. Las estrategias tomadas se tienen que basar en reducir la contaminación a lo largo de todas las etapas de producción de los alimentos (9,10).

Es necesario implementar medidas de higiene adecuadas tanto en el personal sanitario como en los manipuladores de alimentos. Esto incluye lavarse las manos con frecuencia utilizando agua y jabón, ya que los desinfectantes a base de alcohol, no son efectivos contra las esporas de *C. difficile* (20,76). En cuanto a la preparación de alimentos, es esencial someterlos a un tratamiento térmico adecuado, alcanzando una temperatura mínima de 85 °C durante 10-15 minutos. Sin embargo, es importante tener en cuenta que este tratamiento no garantiza una eliminación completa de *C. difficile*, por lo que los alimentos cocinados deben ser enfriados y mantenidos a temperatura de refrigeración, siguiendo las recomendaciones aplicables a otros patógenos similares (9,20).

El tratamiento estándar para la infección por *C. difficile* es la administración de antibióticos, principalmente metronidazol, vancomicina o fidaxomicina, pero lamentablemente la tasa de recurrencia de la enfermedad es muy alta y este tratamiento se vuelve menos efectivo debido a que actualmente varias cepas de esta bacteria han creado resistencia ante estos antibióticos (4,5,77,78).

Aunque hay opiniones dispares, en numerosos artículos se destaca para prevenir la infección por *C. difficile*, tanto en humanos como en animales, el uso de los probióticos que, son organismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud del huésped. Los más utilizados son los que pertenecen a los géneros *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* (79–81).

La vacunación activa es un enfoque rentable para prevenir la CDI y las altas tasas de recurrencia, pero actualmente no hay una vacuna efectiva contra esta bacteria, pero, diversos artículos destacan que las vacunas deben dirigirse tanto a las toxinas de *C. difficile* como a la colonización de células/esporas (82–84).

5. CONCLUSIONES:

1. *Clostridium difficile* o *Clostridiodes difficile* (denominación actual) se ha asociado tradicionalmente como causante de diarrea en pacientes hospitalizados, pero en los últimos años ha modificado su epidemiología, apareciendo con elevada frecuencia en casos comunitarios.

2. El incremento de las infecciones por *C. difficile* se ha atribuido a la aparición de cepas pertenecientes a los ribotipos 001, 027, 053, 106 y 078, sobre todo los ribotipos 027 y 078 que presentan una mayor virulencia.
3. El origen de *C. difficile* involucrado en las infecciones comunitarias no es bien conocido, aunque diversos estudios indican que la cadena alimentaria puede tener una contribución importante, ya que el medio ambiente, los animales y los productos alimenticios contaminados con esporas de *C. difficile*, pueden ser un posible vehículo para la propagación de la infección
4. Aunque existe la posibilidad teórica de que *C. difficile* pueda transmitirse de animales a humanos, la evidencia actual es limitada y se requieren más investigaciones para comprender mejor el papel de los animales en la epidemiología de *C. difficile* y su potencial zoonótico.
5. La liberación de efluentes y biosólidos puede crear una fuente o reservorio de infección comunitaria, ya que las esporas sobreviven a los procesos de tratamiento en las plantas de tratamiento de aguas residuales y procesos de compostaje comercial.
6. Se ha encontrado la presencia de esta bacteria en numerosos alimentos en los que se incluye la carne fresca, las verduras y mariscos, así como el agua de consumo.
7. La prevención y control de *C. difficile* es complicada debido a la resistencia de sus esporas tanto en el medio ambiente como en los alimentos. En la industria alimentaria implican medidas de higiene adecuadas, como el lavado frecuente de manos y el tratamiento térmico de los alimentos.
8. El uso de probióticos se ha investigado como una posible medida preventiva, mientras que la vacunación activa se considera prometedora, pero aún no está disponible. También es esencial que se aborde el problema de la resistencia a los antibióticos, para poder reducir la recurrencia de la infección.

6. BIBLIOGRAFÍA:

1. Czepiel J, Drózdź M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, et al. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis [Internet]. 2019 [cited 2023 Jul 2];38(7). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30945014/>

2. Nasiri MJ, Goudarzi M, Hajikhani B, Ghazi M, Goudarzi H, Pouriran R. Clostridioides (Clostridium) difficile infection in hospitalized patients with antibiotic-associated diarrhea: A systematic review and meta-analysis. *Anaerobe* [Internet]. 2018 Apr 1 [cited 2023 Jul 2];50:32–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29408016/>
3. Alyousef AA. Clostridium difficile: Epidemiology, Pathogenicity, and an Update on the Limitations of and Challenges in Its Diagnosis. *J AOAC Int* [Internet]. 2018 Jul 1 [cited 2023 Jul 2];101(4):1119–26. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29229019/>
4. Guh AY, Kutty PK. Clostridioides difficile Infection. *Ann Intern Med* [Internet]. 2018 Oct 2 [cited 2023 Jul 3];169(7):ITC49–62. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30285209/>
5. Mengoli M, Barone M, Fabbri M, D’Amico F, Brigidi P, Turrone S. Make It Less difficile: Understanding Genetic Evolution and Global Spread of Clostridioides difficile. *Genes (Basel)* [Internet]. 2022 Dec 1 [cited 2023 Jun 30];13(12). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36553467/>
6. Alcalá-Hernández L, Mena-Ribas A, Niubó-Bosh J, Marín-Arriaza M. Diagnóstico microbiológico de la infección por Clostridium difficile. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2016 Nov 1;34(9):595–602.
7. Thanissery R, McLaren MR, Rivera A, Reed AD, Betrapally NS, Burdette T, et al. Clostridioides difficile carriage in animals and the associated changes in the host fecal microbiota. *Anaerobe* [Internet]. 2020 Dec 1 [cited 2023 Jul 2];66. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33022384/>
8. Lital Meyer S, Ricardo Espinoza A, Rodrigo Quera P. Infección por clostridium difficile: epidemiología, diagnóstico y estrategias terapéuticas. *Revista Médica Clínica Las Condes* [Internet]. 2014 May 1 [cited 2023 Jul 3];25(3):473–84. Available from: <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-medica-clinica-las-condes-202-articulo-infeccion-por-clostridium-difficile-epidemiologia-S0716864014700641>
9. Candel-Pérez C, Ros-Berrueto G, Martínez-Graciá C. A review of Clostridioides [Clostridium] difficile occurrence through the food chain. *Food Microbiol*

- [Internet]. 2019 Feb 1 [cited 2023 Jul 3];77:118–29. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30297042/>
10. Lim SC, Knight DR, Riley T V. Clostridium difficile and One Health. Clin Microbiol Infect [Internet]. 2020 Jul 1 [cited 2023 Jul 3];26(7):857–63. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31682985/>
 11. Kachrimanidou M, Tzika E, Filioussis G. Clostridioides (Clostridium) Difficile in Food-Producing Animals, Horses and Household Pets: A Comprehensive Review. Microorganisms [Internet]. 2019 Dec 1 [cited 2023 Jul 3];7(12). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31835413/>
 12. Warriner K, Xu C, Habash M, Sultan S, Weese SJ. Dissemination of Clostridium difficile in food and the environment: Significant sources of C. difficile community-acquired infection? J Appl Microbiol [Internet]. 2017 [cited 2023 Jul 3];122(3):542–53. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27813268/>
 13. Rodriguez C, Taminiau B, Van Broeck J, Delmée M, Daube G. Clostridium difficile in Food and Animals: A Comprehensive Review. Adv Exp Med Biol [Internet]. 2016 Jun 28 [cited 2023 Jun 29];932:65–92. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27350639/>
 14. Thanissery R, McLaren MR, Rivera A, Reed AD, Betrapally NS, Burdette T, et al. Clostridioides difficile carriage in animals and the associated changes in the host fecal microbiota. Anaerobe [Internet]. 2020 Dec 1 [cited 2023 Jul 3];66. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33022384/>
 15. Peniche AG, Savidge TC, Dann SM. Recent insights into Clostridium difficile pathogenesis. Curr Opin Infect Dis [Internet]. 2013 Oct [cited 2023 Jul 3];26(5):447–53. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23982235/>
 16. Napolitano LM, Edmiston CE. Clostridium difficile disease: Diagnosis, pathogenesis, and treatment update. Surgery [Internet]. 2017 Aug 1 [cited 2023 Jul 3];162(2):325–48. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28267992/>
 17. Rodríguez-Pardo D, Mirelis B, Navarro F. Infecciones producidas por Clostridium difficile. Enferm Infecc Microbiol Clin [Internet]. 2013 Apr 1 [cited 2023 Jul 3];31(4):254–63. Available from: <https://www.elsevier.es/es-revista->

enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-infecciones-
producidas-por-clostridium-difficile-S0213005X1200451X

18. Sharma A, Gupta S, Paul K. Codon usage behavior distinguishes pathogenic *Clostridium* species from the non-pathogenic species. *Gene* [Internet]. 2023 Jul 15 [cited 2023 Jul 3];873. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37137382/>
19. Abt MC, McKenney PT, Pamer EG. *Clostridium difficile* colitis: pathogenesis and host defence. *Nat Rev Microbiol* [Internet]. 2016 Oct 1 [cited 2023 Jul 3];14(10):609–20. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27573580/>
20. Hurtado MC, Pilar M, Moreno C, Daschner Á, Riba RE, María R, et al. Revista del comité científico de la Aecosan número 28.
21. Gil F, Lagos-Moraga S, Calderón-Romero P, Pizarro-Guajardo M, Paredes-Sabja D. Updates on *Clostridium difficile* spore biology. *Anaerobe* [Internet]. 2017 Jun 1 [cited 2023 Jul 3];45:3–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28254263/>
22. Edwards AN, McBride SM. Isolating and Purifying *Clostridium difficile* Spores. *Methods Mol Biol* [Internet]. 2016 [cited 2023 Jul 3];1476:117–28. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27507337/>
23. Barra-Carrasco J, Hernández-Rocha C, Ibáñez P, Guzmán-Durán AM, Álvarez-Lobos M, Paredes-Sabja D. [*Clostridium difficile* spores and its relevance in the persistence and transmission of the infection]. *Rev Chilena Infectol* [Internet]. 2014 [cited 2023 Jul 3];31(6):694–703. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25679927/>
24. Sandhu BK, McBride SM. *Clostridioides difficile*. *Trends Microbiol* [Internet]. 2018 Dec 1 [cited 2023 Jul 3];26(12):1049–50. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30297117/>
25. Taha AE. Raw Animal Meats as Potential Sources of *Clostridium difficile* in Al-Jouf, Saudi Arabia. *Food Sci Anim Resour* [Internet]. 2021 [cited 2023 Jul 3];41(5):883–93. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34632406/>

26. Beres C, Colobatiu L, Tabaran A, Mihaiu R, Iuhas C, Mihaiu M. Clostridioides difficile in Food-Producing Animals in Romania: First Study on the Prevalence and Antimicrobial Resistance. Antibiotics [Internet]. 2022 Sep 1 [cited 2023 Jun 29];11(9). Available from: [/pmc/articles/PMC9495095/](#)
27. Uzal FA, Navarro MA, Li J, Freedman JC, Shrestha A, McClane BA. Comparative pathogenesis of enteric clostridial infections in humans and animals. Anaerobe [Internet]. 2018 Oct 1 [cited 2023 Jul 3];53:11–20. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29883627/>
28. Rodriguez Diaz C, Seyboldt C, Rupnik M. Non-human C. difficile Reservoirs and Sources: Animals, Food, Environment. Adv Exp Med Biol [Internet]. 2018 [cited 2023 Jun 29];1050:227–43. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29383672/>
29. Janezic S, Zidaric V, Pardon B, Indra A, Kokotovic B, Blanco JL, et al. International Clostridium difficile animal strain collection and large diversity of animal associated strains. BMC Microbiol [Internet]. 2014 Jun 28 [cited 2023 Jul 3];14(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24972659/>
30. Loo VG, Brassard P, Miller MA. Household Transmission of Clostridium difficile to Family Members and Domestic Pets. Infect Control Hosp Epidemiol [Internet]. 2016 Nov 1 [cited 2023 Jul 3];37(11):1342–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27767004/>
31. Hernandez BG, Vinithakumari AA, Sponseller B, Tangudu C, Mooyottu S. Prevalence, Colonization, Epidemiology, and Public Health Significance of Clostridioides difficile in Companion Animals. Front Vet Sci [Internet]. 2020 Sep 18 [cited 2023 Jul 3];7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33062657/>
32. Norén T, Johansson K, Unemo M. Clostridium difficile PCR ribotype 046 is common among neonatal pigs and humans in Sweden. Clin Microbiol Infect [Internet]. 2014 [cited 2023 Jun 29];20(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23927574/>
33. Andrés-Lasheras S, Bolea R, Mainar-Jaime RC, Kuijper E, Sevilla E, Martín-Burriel I, et al. Presence of Clostridium difficile in pig faecal samples and wild

- animal species associated with pig farms. *J Appl Microbiol* [Internet]. 2017 Feb 1 [cited 2023 Jun 29];122(2):462–72. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27990723/>
34. Andrés-Lasheras S, Martín-Burriel I, Mainar-Jaime RC, Morales M, Kuijper E, Blanco JL, et al. Preliminary studies on isolates of *Clostridium difficile* from dogs and exotic pets. *BMC Vet Res* [Internet]. 2018 Mar 9 [cited 2023 Jul 3];14(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29523201/>
 35. Álvarez-Pérez S, Blanco JL, Harmanus C, Kuijper EJ, García ME. Prevalence and characteristics of *Clostridium perfringens* and *Clostridium difficile* in dogs and cats attended in diverse veterinary clinics from the Madrid region. *Anaerobe* [Internet]. 2017 Dec 1 [cited 2023 Jul 3];48:47–55. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28687280/>
 36. Avberšek J, Pirš T, Pate M, Rupnik M, Ocepek M. *Clostridium difficile* in goats and sheep in Slovenia: characterisation of strains and evidence of age-related shedding. *Anaerobe* [Internet]. 2014 [cited 2023 Jun 29];28:163–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24960532/>
 37. Drigo I, Mazzolini E, Bacchin C, Tonon E, Puiatti C, Bano L, et al. Molecular characterization and antimicrobial susceptibility of *Clostridium difficile* isolated from rabbits raised for meat production. *Vet Microbiol*. 2015 Dec 31;181(3–4):303–7.
 38. Rodriguez C, Taminiau B, Brévers B, Avesani V, Van Broeck J, Leroux A, et al. Faecal microbiota characterisation of horses using 16 rDNA barcoded pyrosequencing, and carriage rate of *Clostridium difficile* at hospital admission. *BMC Microbiol* [Internet]. 2015 Sep 16 [cited 2023 Jun 29];15(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26377067/>
 39. Diniz AN, Coura FM, Rupnik M, Adams V, Stent TL, Rood JI, et al. The incidence of *Clostridioides difficile* and *Clostridium perfringens* netF-positive strains in diarrheic dogs. *Anaerobe* [Internet]. 2018 Feb 1 [cited 2023 Jul 3];49:58–62. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29274467/>
 40. Rabold D, Espelage W, Sin MA, Eckmanns T, Schneeberg A, Neubauer H, et al. The zoonotic potential of *Clostridium difficile* from small companion animals and

- their owners. PLoS One [Internet]. 2018 Feb 1 [cited 2023 Jul 3];13(2). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29474439/>
41. Wei Y, Sun M, Zhang Y, Gao J, Kong F, Liu D, et al. Prevalence, genotype and antimicrobial resistance of *Clostridium difficile* isolates from healthy pets in Eastern China. BMC Infect Dis [Internet]. 2019 Jan 11 [cited 2023 Jul 3];19(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30634930/>
 42. Usui M, Suzuki K, Oka K, Miyamoto K, Takahashi M, Inamatsu T, et al. Distribution and characterization of *Clostridium difficile* isolated from dogs in Japan. Anaerobe [Internet]. 2016 Feb 1 [cited 2023 Jul 3];37:58–61. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26456188/>
 43. Chisholm JM, Putsathit P, Riley T V., Lim SC. Spore-Forming *Clostridium* (*Clostridioides*) *difficile* in Wastewater Treatment Plants in Western Australia. Microbiol Spectr [Internet]. 2023 Feb 14 [cited 2023 Jul 3];11(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36475924/>
 44. Romano V, Pasquale V, Krovacek K, Mauri F, Demarta A, Dumontet S. Toxigenic *Clostridium difficile* PCR ribotypes from wastewater treatment plants in southern Switzerland. Appl Environ Microbiol [Internet]. 2012 Sep [cited 2023 Jul 3];78(18):6643–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22798376/>
 45. Freier L, Zacharias N, Gemein S, Gebel J, Engelhart S, Exner M, et al. Environmental Contamination and Persistence of *Clostridioides difficile* in Hospital Wastewater Systems. Appl Environ Microbiol [Internet]. 2023 Apr 18 [cited 2023 Jul 3];89(5):e0001423. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37071016/>
 46. Lim SC, Hain-Saunders NMR, Imwattana K, Putsathit P, Collins DA, Riley T V. Genetically related *Clostridium difficile* from water sources and human CDI cases revealed by whole-genome sequencing. Environ Microbiol [Internet]. 2022 Mar 1 [cited 2023 Jun 29];24(3):1221–30. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34693624/>
 47. Dharmasena M, Jiang X. Isolation of Toxigenic *Clostridium difficile* from Animal Manure and Composts Being Used as Biological Soil Amendments. Appl Environ

- Microbiol [Internet]. 2018 Aug 8 [cited 2023 Jun 29];84(16). Available from: [/pmc/articles/PMC6070769/](#)
48. Abay S, Ahmed EF, Aydin F, Karakaya E, Müştak HK. Presence of *Clostridioides difficile* in cattle feces, carcasses, and slaughterhouses: Molecular characterization and antibacterial susceptibility of the recovered isolates. *Anaerobe* [Internet]. 2022 Jun 1 [cited 2023 Jun 29];75. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35477095/>
 49. Tkalec V, Janezic S, Skok B, Simonic T, Mesaric S, Vrabic T, et al. High *Clostridium difficile* contamination rates of domestic and imported potatoes compared to some other vegetables in Slovenia. *Food Microbiol* [Internet]. 2019 Apr 1 [cited 2023 Jul 3];78:194–200. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30497603/>
 50. Lim SC, Foster NF, Elliott B, Riley T V. High prevalence of *Clostridium difficile* on retail root vegetables, Western Australia. *J Appl Microbiol* [Internet]. 2018 Feb 1 [cited 2023 Jul 3];124(2):585–90. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29193458/>
 51. Usui M, Maruko A, Harada M, Kawabata F, Sudo T, Noto S, et al. Prevalence and characterization of *Clostridioides difficile* isolates from retail food products (vegetables and meats) in Japan. *Anaerobe* [Internet]. 2020 Feb 1 [cited 2023 Jun 29];61. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31778810/>
 52. Wu YC, Chen CM, Kuo CJ, Lee JJ, Chen PC, Chang YC, et al. Prevalence and molecular characterization of *Clostridium difficile* isolates from a pig slaughterhouse, pork, and humans in Taiwan. *Int J Food Microbiol*. 2017 Feb 2;242:37–44.
 53. Candel-Pérez C, Santaella-Pascual J, Ros-Berruezo G, Martínez-Graciá C. Occurrence of *Clostridioides* (*Clostridium*) *difficile* in Poultry GIBLETS at Slaughter and in Retail Pork and Poultry Meat in Southeastern Spain. *J Food Prot* [Internet]. 2021 Feb 1 [cited 2023 Jun 29];84(2):310–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33513258/>
 54. Rahimi E, Jalali M, Weese JS. Prevalence of *Clostridium difficile* in raw beef, cow, sheep, goat, camel and buffalo meat in Iran. *BMC Public Health* [Internet]. 2014

- Feb 5 [cited 2023 Jul 3];14(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24499381/>
55. Bacheno H, Ahmadi M, Fazeli F, Ariaii P. Clostridioides difficile in Foods with Animal Origins; Prevalence, Toxigenic Genes, Ribotyping Profile, and Antimicrobial Resistance. *J Food Qual.* 2022;2022.
 56. Yamoudy M, Mirlohi M, Isfahani BN, Jalali M, Esfandiari Z, Hosseini NS. Isolation of toxigenic Clostridium difficile from ready-to-eat salads by multiplex polymerase chain reaction in Isfahan, Iran. *Adv Biomed Res [Internet].* 2015 [cited 2023 Jun 29];4(1):87. Available from: </pmc/articles/PMC4434448/>
 57. Varshney JB, Very KJ, Williams JL, Hegarty JP, Stewart DB, Lumadue J, et al. Characterization of Clostridium difficile isolates from human fecal samples and retail meat from Pennsylvania. *Foodborne Pathog Dis [Internet].* 2014 Oct 1 [cited 2023 Jul 3];11(10):822–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25269079/>
 58. Norman KN, Harvey RB, Andrews K, Hume ME, Callaway TR, Anderson RC, et al. Survey of Clostridium difficile in retail seafood in College Station, Texas. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess [Internet].* 2014 [cited 2023 Jul 3];31(6):1127–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24524301/>
 59. Han Y, King J, Janes ME. Detection of antibiotic resistance toxigenic Clostridium difficile in processed retail lettuce. *Food Quality and Safety [Internet].* 2018 Mar 6 [cited 2023 Jun 29];2(1):37–41. Available from: <https://dx.doi.org/10.1093/fqsafe/fyx032>
 60. Rodriguez-Palacios A, Ilic S, LeJeune JT. Clostridium difficile with Moxifloxacin/Clindamycin Resistance in Vegetables in Ohio, USA, and Prevalence Meta-Analysis. *J Pathog [Internet].* 2014 [cited 2023 Jun 29];2014:1–7. Available from: </pmc/articles/PMC4279118/>
 61. Kouassi KA, Dadie AT, N’Guessan KF, Dje KM, Loukou YG. Clostridium perfringens and Clostridium difficile in cooked beef sold in Côte d’Ivoire and their antimicrobial susceptibility. *Anaerobe [Internet].* 2014 [cited 2023 Jul 3];28:90–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24944124/>

62. Rodríguez C, Taminiau B, Avesani V, Van Broeck J, Delmée M, Daube G. Multilocus sequence typing analysis and antibiotic resistance of *Clostridium difficile* strains isolated from retail meat and humans in Belgium. *Food Microbiol* [Internet]. 2014 [cited 2023 Jul 3];42:166–71. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24929733/>
63. Quesada-Gómez C, Mulvey MR, Vargas P, Del Mar Gamboa-Coronado M, Rodríguez C, Rodríguez-Cavillini E. Isolation of a toxigenic and clinical genotype of *clostridium difficile* in retail meats in Costa Rica. *J Food Prot* [Internet]. 2013 Feb [cited 2023 Jul 3];76(2):348–51. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23433387/>
64. Eckert C, Burghoffer B, Barbut F. Contamination of ready-to-eat raw vegetables with *Clostridium difficile* in France. *J Med Microbiol* [Internet]. 2013 [cited 2023 Jul 3];62(Pt 9):1435–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23449876/>
65. Troiano T, Harmanus C, Sanders IMJG, Pasquale V, Dumontet S, Capuano F, et al. Toxigenic *Clostridium difficile* PCR ribotypes in edible marine bivalve molluscs in Italy. *Int J Food Microbiol* [Internet]. 2015 Sep 2 [cited 2023 Jun 29];208:30–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26022983/>
66. Candel-Pérez C, Zapata-Galián E, López-Nicolás R, Ros-Berruezo G, Martínez-Graciá C. Presence of toxigenic *Clostridioides (Clostridium) difficile* in edible bivalve mollusks in Spain. *Food Sci Technol Int* [Internet]. 2020 Jul 1 [cited 2023 Jul 3];26(5):413–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31876184/>
67. Hazarika R, Sarmah H, Doley MK, Saikia DP, Hazarika G, Barkalita LM, et al. *Clostridioides difficile* in food and food products of animal origin in Assam, India. *Anaerobe* [Internet]. 2023 Jun 1 [cited 2023 Jul 3];81. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37023847/>
68. Tan DT, Mulvey MR, Zhanel GG, Bay DC, Reid-Smith RJ, Janecko N, et al. A *Clostridioides difficile* surveillance study of Canadian retail meat samples from 2016-2018. *Anaerobe* [Internet]. 2022 Apr 1 [cited 2023 Jul 3];74. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35341959/>

69. Rodriguez C, Hakimi DE, Vanleyssem R, Taminiou B, Van Broeck J, Delmée M, et al. Clostridium difficile in beef cattle farms, farmers and their environment: Assessing the spread of the bacterium. *Vet Microbiol* [Internet]. 2017 Oct 1 [cited 2023 Jul 3];210:183–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29103690/>
70. Gauvry E, Mathot AG, Leguériel I, Couvert O, Postollec F, Broussolle V, et al. Knowledge of the physiology of spore-forming bacteria can explain the origin of spores in the food environment. *Res Microbiol*. 2017 May 1;168(4):369–78.
71. Danielson ND, Collins J, Stothard AI, Dong QQ, Kalera K, Woodruff PJ, et al. Degradation-Resistant Trehalose Analogues Block Utilization of Trehalose by Hypervirulent Clostridioides difficile. *Chem Commun (Camb)* [Internet]. 2019 Apr 4 [cited 2023 Jun 29];55(34):5009. Available from: </pmc/articles/PMC6499371/>
72. Buckley AM, Moura IB, Wilcox MH. Is there a causal relationship between trehalose consumption and Clostridioides difficile infection? *Curr Opin Gastroenterol* [Internet]. 2021 Jan 1 [cited 2023 Jun 29];37(1):9–14. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33105252/>
73. Collins J, Robinson C, Danhof H, Knetsch CW, Van Leeuwen HC, Lawley TD, et al. Dietary trehalose enhances virulence of epidemic Clostridium difficile. *Nature* [Internet]. 2018 Jan 18 [cited 2023 Jun 29];553(7688):291–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29310122/>
74. Collins J, Danhof H, Britton RA. The role of trehalose in the global spread of epidemic Clostridium difficile. *Gut Microbes* [Internet]. 2019 [cited 2023 Jun 29];10(2):204–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30118389/>
75. Buckley AM, Moura IB, Arai N, Spittal W, Clark E, Nishida Y, et al. Trehalose-Induced Remodelling of the Human Microbiota Affects Clostridioides difficile Infection Outcome in an In Vitro Colonic Model: A Pilot Study. *Front Cell Infect Microbiol* [Internet]. 2021 Jul 2 [cited 2023 Jun 29];11. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34277467/>

76. Hoover DG, Rodriguez-Palacios A. Transmission of *Clostridium difficile* in foods. *Infect Dis Clin North Am* [Internet]. 2013 Sep [cited 2023 Jul 1];27(3):675–85. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24011836/>
77. Grudlewska-Buda K, Bauza-Kaszewska J, Wiktorczyk-Kapischke N, Budzyńska A, Gospodarek-Komkowska E, Skowron K. Antibiotic Resistance in Selected Emerging Bacterial Foodborne Pathogens-An Issue of Concern? *Antibiotics (Basel)* [Internet]. 2023 May 1 [cited 2023 Jun 30];12(5). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37237783/>
78. Marcos P, Doyle A, Whyte P, Rogers TR, McElroy M, Fanning S, et al. Characterization of Food Chain *Clostridioides difficile* Isolates in Terms of Ribotype and Antimicrobial Resistance. *Microorganisms* [Internet]. 2023 May 1 [cited 2023 Jun 30];11(5). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37317270/>
79. Valdés-Varela L, Gueimonde M, Ruas-Madiedo P. Probiotics for prevention and treatment of *Clostridium difficile* infection. *Adv Exp Med Biol* [Internet]. 2018 [cited 2023 Jun 30];1050:161–76. Available from: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-72799-8_10
80. Arruda PHE, Madson DM, Ramirez A, Rowe EW, Songer JG. Bacterial probiotics as an aid in the control of *Clostridium difficile* disease in neonatal pigs. *The Canadian Veterinary Journal* [Internet]. 2016 Feb 1 [cited 2023 Jun 30];57(2):183. Available from: </pmc/articles/PMC4712999/>
81. Fredua-Agyeman M, Stapleton P, Basit AW, Beezer AE, Gaisford S. In vitro inhibition of *Clostridium difficile* by commercial probiotics: A microcalorimetric study. *Int J Pharm* [Internet]. 2017 Jan 30 [cited 2023 Jul 1];517(1–2):96–103. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27923699/>
82. Wang S, Zhu D, Sun X. Development of an Effective Nontoxigenic *Clostridioides difficile*-Based Oral Vaccine against *C. difficile* Infection. *Microbiol Spectr* [Internet]. 2022 Jun 29 [cited 2023 Jun 30];10(3). Available from: </pmc/articles/PMC9241731/>
83. Wang Y, Wang S, Bouillaut L, Li C, Duan Z, Zhang K, et al. Oral Immunization with Nontoxigenic *Clostridium difficile* Strains Expressing Chimeric Fragments

- of TcdA and TcdB Elicits Protective Immunity against *C. difficile* Infection in Both Mice and Hamsters. *Infect Immun* [Internet]. 2018 Nov 1 [cited 2023 Jul 3];86(11). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30150259/>
84. Bruxelles JF, Péchiné S, Collignon A. Immunization Strategies Against *Clostridium difficile*. *Adv Exp Med Biol* [Internet]. 2018 [cited 2023 Jul 3];1050:197–225. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29383671/>