

## RIDA® QUICK Clostridium difficile Toxin A/B

**REF** N0803



## 1. Application

Pour usage diagnostique *in vitro*. RIDA®QUICK Clostridium difficile Toxin A/B est un test de détection immunochromatographique rapide pour la détection qualitative des toxines A et B de *Clostridium difficile* dans des échantillons de selles et des surnageants de culture.

## 2. Résumé et explication du test

Les maladies diarrhéiques sont un effet secondaire relativement courant des traitements antibiotiques. En particulier depuis l'introduction de la clindamycine au début des années 1970, on a noté une incidence plus élevée de formes plus graves de la maladie qui se manifestaient sous forme de colite pseudomembraneuse (CPM) à grande échelle. Cette diarrhée associée aux antibiotiques (DAA) est principalement causée par *Clostridium difficile* et est donc appelée diarrhée associée au *Clostridium difficile* (DACD). C'est l'une des formes les plus courantes d'infections nosocomiales dans les pays développés. Le taux de portage chez les patients hospitalisés est quant à lui passé de 16 % à 35 %. Nous avons maintenant identifié des souches avec une virulence croissante en raison de mécanismes spécifiques de pathogénicité qui font que l'infection à *Clostridium difficile* (ICD) est un facteur de coût important au sein des soins de santé. La production des toxines A et B par des souches toxigènes de *Clostridium difficile* joue un rôle important dans la manifestation clinique de la maladie. Ces protéines de toxine de haut poids moléculaire d'environ 300 kDa chacune peuvent être distinguées d'un point de vue immunologique et fonctionnel. La toxine A est une entérotoxine, la toxine B une cytotoxine. Les deux toxines agissent seules, mais également en synergie. Étant donné que certaines souches de *Clostridium difficile* ne produisent pas de toxines et qu'environ 2 % à 8 % des adultes en bonne santé et jusqu'à 80 % des enfants de moins de deux ans peuvent être infectés par le *Clostridium difficile*, la détection des toxines A et B dans les échantillons de selles conjointement avec l'apparition de DCAD est très importante pour le diagnostic et la décision de traitement.

RIDA®QUICK Clostridium difficile Toxin A/B est un test de détection rapide utilisé pour la détection spécifique de la toxine A et de la toxine B simultanément dans les échantillons de selles de patients utilisant des anticorps **monoclonaux**. Des résultats fiables du test sont disponibles en 15 minutes seulement, afin de mettre en place des mesures efficaces de traitement à un stade précoce.

## 3. Principe du test

Ce test de détection rapide est un dosage immunochromatique à flux latéral et en une seule étape qui utilise des anticorps anti-toxine B et anti-toxine A aussi bien biotinylés que marqués à l'or. Dès que les toxines A et/ou B de *Clostridium difficile* sont présentes dans un échantillon positif, des complexes immuns se forment avec les

anticorps anti-toxine A et anti-toxine B marqués, qui passent ensuite à travers la membrane. La streptavidine de la ligne de test T se lie aux complexes immuns circulants par l'intermédiaire de la biotine associée aux anticorps anti-toxine A et anti-toxine B, de sorte qu'il se produit une coloration rouge-violette de la ligne T. Les anticorps marqués à l'or non complexés continus qui passent à travers sont liés à la ligne de contrôle C suivante. En cas d'échantillons négatifs, les complexes immuns marqués à l'or se lient uniquement à la ligne C et non à la ligne T. La ligne C rouge indique toujours si la procédure d'évaluation est valable.

#### 4. Contenu du paquet

Les réactifs fournis dans la trousse permettent de faire 25 déterminations.

**Tableau 1** : Contenu du paquet

Cassette	25 tests	25 cassettes de test conditionnées individuellement
Reagent A	13,5 ml	Anticorps anti-toxine A et anti-toxine B spécifiques (souris); contient 0,05 % d'azoture de sodium, prêt à l'emploi, de couleur bleue
Reagent B	13,5 ml	Anticorps anti-toxine A et anti-toxine B spécifiques (souris); contient 0,05 % d'azoture de sodium, prêt à l'emploi, de couleur jaune
Pipet	25 unités	Sachet de 25 pipettes jetables
Reagent vial	25 unités	Sachet de 25 flacons de réaction
Pipet Tip	25 unités	Sachet avec 25 pointes de pipette
Microlit Pipet	1 unité	Pipette pour des volumes de 150 µl

Les matières dangereuses sont signalées conformément aux dispositions d'étiquetage obligatoires. Pour en savoir plus, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) à l'adresse [www.biopharm.com](http://www.biopharm.com).

#### 5. Instructions de conservation

L'emballage doit être entreposé entre 2 et 25 °C et peut être utilisé jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette. Après la date de péremption, la qualité n'est plus garantie. De même, la validité des cassettes ne peut plus être garantie si l'emballage de la cassette est endommagé.

## 6. Réactifs requis, mais non fournis

### 6.1 Réactifs nécessaires

Aucun réactif supplémentaire n'est nécessaire pour effectuer ce test.

### 6.2 Matériel de laboratoire nécessaire

Le matériel suivant est nécessaire pour effectuer ce test :

Matériel
Agitateur vortex (en option)
Conteneurs de déchets avec une solution d'hypochlorite de sodium à 0,5 %

## 7. Mesures de précaution

Exclusivement réservé au diagnostic *in vitro*.

Ce test doit uniquement être réalisé par un personnel de laboratoire formé. Il convient de respecter les directives de travail dans les laboratoires médicaux. Les instructions d'exécution du test doivent être respectées à la lettre. Ne pas pipeter les échantillons ou les réactifs à la bouche. **Éviter tout contact avec les plaies et les membranes muqueuses.** Lors de la manipulation des réactifs et des échantillons, **porter un équipement de protection individuelle (gants adaptés, blouse, lunettes de protection)** et se laver les mains à l'issue du test. Ne pas fumer, manger, ni boire dans les zones où des échantillons sont manipulés.

**Pour en savoir plus, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) sur [www.rbiopharm.com](http://www.rbiopharm.com).**

Après utilisation, les utilisateurs sont responsables de la mise au rebut appropriée de tous les réactifs et matériaux. Pour la mise au rebut, respecter les règlements nationaux.

Les réactifs contiennent 0,05 % d'azoture de sodium comme conservateur. Cette substance ne doit pas entrer en contact avec la peau ou les membranes muqueuses.

Tous les réactifs et matériaux entrant en contact avec des échantillons potentiellement infectieux doivent être traités exactement de la même manière que les échantillons infectieux avec des désinfectants adaptés (p. ex. l'hypochlorite de sodium) ou passés à l'autoclave à 121 °C pendant au moins une heure.

## 8. Prélèvement et conservation des échantillons

Les échantillons de selles doivent être recueillis dans des récipients propres sans additifs et conservés entre 2 et 8 °C avant le début du test. S'il est conservé pendant plus de trois jours, l'échantillon doit être congelé à -20 °C (tableau 2). Dans ce cas, l'échantillon est entièrement décongelé et ramené à température ambiante avant le test. Éviter de congeler et décongeler l'échantillon plusieurs fois.

Lorsque des frottis rectaux sont utilisés, il faut veiller à disposer d'une quantité nécessaire de selles pour effectuer le test (env. 50 mg).

### Tableau 2 : Conservation des échantillons

Échantillon de selles non dilué	
entre 2 et 8 °C	≤ -20 °C
≤ 3 jours	> 3 jours

## 9. Réalisation du test

### 9.1 Informations générales

Les échantillons, les réactifs et les cassettes de test doivent être ramenés à température ambiante (20 à 25 °C) avant utilisation. Les cassettes de test ne doivent pas être sorties de leur emballage avant utilisation. Ne pas réutiliser les cassettes une fois utilisées. Ne pas réaliser le test à la lumière directe du soleil. Ne pas remettre les réactifs excédentaires dans les flacons pour éviter toute éventuelle contamination.

### 9.2 Préparation pour l'analyse des échantillons

Transférer **0,5 ml** (environ 12 à 14 gouttes) de chacun des réactif A **Reagent A** et réactif B **Reagent B** dans un flacon de réaction étiqueté **Reagent vial**. Lors de cette étape, les graduations de 0,5 ml et 1,0 ml sur le flacon de réaction sont **prioritaires** quel que soit le nombre respectif de gouttes de réactifs A et B. Le rapport des réactifs A et B doit être égal à **1:1**.

#### 9.2.1 Utilisation d'échantillons de selles

Pour les échantillons de selles **liquides**, utiliser la pipette jetable **Pipet** pour la mise en suspension de 50 µl (jusqu'au deuxième renflement) dans le mélange de réactifs pré-pipeté.

Pour les échantillons de selles **solides**, suspendre environ 50 mg de la même manière. Ensuite, fermer hermétiquement le flacon de réaction et homogénéiser l'échantillon en mélangeant soigneusement (ou en l'agitant au vortex). Ensuite, la suspension homogène doit décanter pendant **5 minutes** pour permettre la formation d'un surnageant essentiellement exempt de particules. Pour la sédimentation, le flacon de réaction peut être placé dans l'une des ouvertures médianes de l'insert de réactif.

### 9.2.1 Utilisation de cultures liquides et solides de *Clostridium difficile*

Pipeter et mélanger 50 µl d'un **bouillon nutritif** (par exemple, bouillon de thioglycolate) dans 1,0 ml du mélange de réactifs préparé précédemment dans le flacon de réaction, composé de réactif A (0,5 ml) et de réactif B (0,5 ml). 150 µl du mélange seront utilisés pour l'analyse des échantillons (Section 9.3).

Lorsque des **milieux de culture solides** sont utilisés, retirer autant de colonies que possible de la plaque de milieu de culture, puis suspendre complètement dans 1 ml d'eau distillée ou une solution saline (0,9 % de NaCl). Ensuite, pipeter et mélanger 50 µl de cette suspension dans 1,0 ml du mélange de réactifs préparé précédemment dans le flacon de réaction, constitué du réactif A (0,5 ml) et du réactif B (0,5 ml). 150 µl du mélange seront utilisés pour l'analyse des échantillons (Section 9.3).

### 9.3 Analyse des échantillons

Retirer la cassette de test **Cassette** de l'emballage et la placer sur une surface plane. Ensuite, placer une nouvelle pointe de pipette **Pipet Tip** sur la pipette Microlit **Microlit Pipet**, prélever 150 µl de surnageant du flacon de réaction correspondant et le pipeter dans la zone d'application de la cassette de test. Veiller à ce que le liquide puisse s'écouler à travers la membrane sans difficulté. Si le test est correctement réalisé, la bande de contrôle apparaîtra sur la ligne de contrôle C au bout d'environ 3 minutes. Si la ligne de contrôle n'est pas visible après 3 minutes, un nouvel échantillon devra être préparé avec une meilleure sédimentation (éventuellement, par centrifugation de 2 minutes pour 2 000 g) et pipeté dans la zone d'application d'une nouvelle cassette de test.

Toujours attendre **15 minutes** avant de lire le résultat du test. La couleur des bandes et leur intensité peuvent passer du rouge-violet au bleu-violet et au gris-violet pendant toute la phase de développement et après le séchage de la bande.

## 10. Contrôle qualité – signes d'instabilité ou de péremption des réactifs

Le test ne doit être évalué que si la cassette de test est intacte avant de pipeter la suspension de l'échantillon et si aucune modification de la couleur ou aucune bande n'est observée. De même, après une période d'incubation de 15 minutes, la bande de contrôle de couleur rouge-violet doit être visible. Si elle n'apparaît pas, vérifier les éléments suivants avant de renouveler le test :

- Date de péremption des cassettes de test et des réactifs utilisés
- Réalisation correcte du test
- Contamination des réactifs

Si la bande de contrôle n'est toujours pas visible après avoir renouvelé le test avec une nouvelle cassette de test, contacter le fabricant ou votre distributeur R-Biopharm local.

## 11. Évaluation et interprétation

Un maximum de deux bandes doit apparaître, vues dans le champ d'application de l'échantillon, avec la séquence suivante : une bande de réaction rouge-violet sur la ligne T du test et une bande de contrôle rouge-violet sur la ligne de contrôle C. **Si la bande de contrôle est absente, le test ne peut pas être évalué et n'est pas valide !**

Les interprétations suivantes sont possibles :

- **Positif pour la toxine *Clostridium-difficile*** : les deux bandes sont visibles.
- **Négatif pour la toxine *Clostridium difficile*** : seule la bande de contrôle est visible.
- **Invalide** : aucune bande n'est visible ou il existe une constellation autre que celle mentionnée ci-dessus. De même, les décolorations des bandes qui apparaissent bien au-delà de 15 minutes n'ont pas de valeur diagnostique et ne doivent pas être évaluées.

## 12. Limites de la méthode

RIDA®QUICK Clostridium difficile Toxin A/B détecte la toxine A et/ou B de *Clostridium difficile* dans des échantillons de selles ou dans des cultures de *C. difficile* après enrichissement. Il n'est pas possible d'associer l'intensité des bandes spécifiques visibles à l'apparition ou la gravité des symptômes cliniques. **Les résultats obtenus doivent toujours être interprétés au regard des symptômes cliniques dans leur ensemble.**

Un résultat **positif** n'exclut pas la présence d'autres agents pathogènes infectieux ou d'autres causes.

Un résultat **négatif** n'exclut pas une éventuelle infection au *Clostridium difficile*. Un tel résultat peut être dû à l'élimination temporaire du pathogène ou à une quantité insuffisante de toxine dans l'échantillon. Si l'anamnèse est en faveur d'une suspicion d'infection avec le pathogène cible, un autre échantillon de selles du patient doit être examiné.

Un excès d'échantillon de selles peut amener la bandelette de test à prendre une couleur brunâtre en plus de la coloration rouge-violet de la bande de test spécifique. Dans ces cas, le test doit être répété avec une plus petite quantité de selles ou une suspension mieux sédimentée par centrifugation afin de déterminer si les toxines de *Clostridium difficile* présumées sont réellement présentes dans l'échantillon, mais ont été superposées par une matrice de selles excessive utilisée.

## 13. Performances

### 13.1. Sensibilité et spécificité cliniques

RIDA®QUICK Clostridium difficile Toxin A/B a été comparé à deux tests à flux latéral disponibles dans le commerce. Pour la comparaison, 61 échantillons de selles ont été analysés avec les trois tests. Les résultats sont résumés dans le tableau 3.

**Tableau 3** : Performance clinique de RIDA®QUICK Clostridium difficile Toxin A/B

		Test 1		Test 2	
		Positif	Négatif	Positif	Négatif
RIDA®QUICK Clostridium difficile Toxin A/B	Positif	35	0	35	0
	Négatif	4	22	0	26

Corrélation positive : 94,6 % 100 %  
Corrélation négative : 91,7 % 100 %

### 13.2 Sensibilité analytique

La sensibilité analytique du test de détection rapide RIDA®QUICK Clostridium difficile Toxin A/B a été déterminée en diluant des concentrations définies de toxines A et B pures en série. Cette série de dilutions a été utilisée pour déterminer une limite de détection (LD) provisoire qui a été vérifiée par 30 mesures en utilisant la LD provisoire. Les résultats sont résumés dans le tableau 4.

**Tableau 4** : Sensibilité analytique de RIDA®QUICK Clostridium difficile Toxin A/B

Concentration en toxine Toxine A [ng/ml]	RIDA®QUICK Clostridium difficile Toxin A/B		Concentration en toxine Toxine B [ng/ml]	RIDA®QUICK Clostridium difficile Toxin A/B	
	Lot 1	Lot 2		Lot 1	Lot 2
8,00	Positif	Positif	4,00	Positif	Positif
7,00	Positif	Positif	3,00	Positif	Positif
6,00	Positif	Positif	<b>2,00</b>	<b>Positif</b>	<b>Positif</b>
<b>5,00</b>	<b>Positif</b>	<b>Positif</b>	1,00	Négatif	Positif
4,00	Positif	Négatif	0,50	Positif	Négatif
3,00	Négatif	Négatif	0,25	Positif	Négatif
2,00	Négatif	Négatif	0,13	Négatif	Négatif
1,00	Négatif	Négatif	0,06	Négatif	Négatif
0,50	Négatif	Négatif	0,03	Négatif	Négatif
0,25	Négatif	Négatif	0,02	Négatif	Négatif

D'après les mesures de vérification, la LD de RIDA®QUICK Clostridium difficile Toxin A/B a été déterminée à 5 ng/ml pour la toxine A et 2 ng/ml pour la toxine B dans l'échantillon. Par conséquent, la LD du mélange réactionnel préparé, qui est une dilution 1:21 de l'échantillon dans le réactif A et le réactif B, est de 0,24 ng/ml pour la toxine A et de 0,10 ng/ml pour la toxine B.



### 13.3. Précision

La précision du test RIDA®QUICK Clostridium difficile Toxin A/B a été déterminée en examinant la précision intra-test, la précision inter-jours, la précision inter-opérateurs et la précision inter-lots. Pour chaque test, cinq références ont été mesurées : une négative, deux faiblement positives (toxines A et B) et deux moyennement positives (toxines A et B).

#### 13.3.1 Précision intra-test

La précision intra-test a été déterminée en demandant à un opérateur de mesurer les cinq références dix fois chacune. RIDA®QUICK Clostridium difficile Toxin A/B a montré une précision intra-test de 100 %.

#### 13.3.2 Précision inter-jours

La précision inter-jours a été déterminée en demandant à deux opérateurs de mesurer les cinq références en trois exemplaires sur dix jours différents. La précision inter-jours était de 100 % pour toutes les références positives et de 93 % pour toutes les références négatives, ce qui se situe dans une limite acceptable.

#### 13.3.3 Précision inter-opérateurs

La précision inter-opérateurs a été réalisée par deux opérateurs dans le cadre de la précision inter-jours. Le test a fourni des résultats reproductibles entre différents opérateurs (voir 13.3.2).

#### 13.3.4 Précision inter-lots

Les cinq références ont été analysées chacune par le même opérateur en triple exemplaire avec trois lots de trousse. La précision inter-lots était de 100 %.

### 13.4. Réactivité croisée

Divers micro-organismes pathogènes du tractus intestinal ont été examinés à l'aide du test RIDA®QUICK Clostridium difficile Toxin A/B et, mis à part *Staphylococcus aureus*, ils n'ont démontré aucune réactivité croisée. Ces tests ont été réalisés en utilisant des suspensions bactériennes ( $10^7$  à  $10^9$  UCF/ml), des cultures de parasites ( $10^7$  à  $10^9$  organismes/ml), des surnageants de culture cellulaire de cellules infectées par un virus et un échantillon de selles. Les résultats sont indiqués dans le tableau 5.

**Tableau 5** : Réactivité croisée de RIDA®QUICK Clostridium difficile Toxin A/B

Organisme	Origine	Résultat
<i>Adénovirus</i>	Surnageant de culture cellulaire	Négatif
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Culture	Négatif
<i>Astrovirus</i>	Surnageant de culture cellulaire	Négatif
<i>Bacillus cereus</i>	Culture	Négatif
<i>Bacteroides fragilis</i>	Culture	Négatif
<i>Campylobacter coli</i>	Culture	Négatif
<i>Campylobacter jejuni</i>	Culture	Négatif
<i>Candida albicans</i>	Culture	Négatif
<i>Citrobacter freundii</i>	Culture	Négatif
<i>Clostridium difficile</i>	Culture	Négatif
<i>Clostridium perfringens</i>	Culture	Négatif
<i>Clostridium sordellii</i>	Culture	Négatif
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Culture	Négatif
<i>E. coli</i> (O26:H-)	Culture	Négatif
<i>E. coli</i> (O6)	Culture	Négatif
<i>E. coli</i> (O157:H7)	Culture	Négatif
<i>Entamoeba</i>	Matériau de contrôle positif	Négatif
<i>Enterobacter cloacae</i>	Culture	Négatif
<i>Enterococcus faecalis</i>	Culture	Négatif
<i>Giardia lamblia</i>	Échantillon de selles	Négatif
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Culture	Négatif
<i>Proteus vulgaris</i>	Culture	Négatif
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Culture	Négatif
<i>Rotavirus</i>	Surnageant de culture cellulaire	Négatif
<i>Salmonella enteritidis</i>	Culture	Négatif
<i>Salmonella typhimurium</i>	Culture	Négatif
<i>Serratia liquefaciens</i>	Culture	Négatif
<i>Shigella flexneri</i>	Culture	Négatif
<i>Staphylococcus aureus</i>	Culture	Positif
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Culture	Négatif
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Culture	Négatif
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Culture	Négatif

### 13.5 Substances interférentes

Les substances mentionnées ci-dessous n'ont aucun effet sur les résultats du test lorsqu'elles ont été mélangées dans des échantillons de selles positifs et négatifs à *Clostridium difficile*-toxines A/B aux concentrations indiquées :










Lopéramide	0,02 % p/p	Sulfate de baryum	18,5 % p/p
Pepto-bismol	6,3 % v/p	Cyclamate	1,3 % v/p
Sang humain	5 % v/p		
Acide stéarique/ acide palmitique (1:1)	40 % p/p	Solution de métronidazole à 0,5 %	3 % v/p
Mucine	5 % p/p	Diclofénac	0,01 % v/p
Vancomycine	3 % v/p		

## 14. Historique des versions

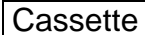





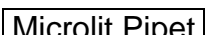
Numéro de version	Section et désignation
2010-04-20	Version précédente
2020-08-10	Révision générale 2. Résumé et explication du test 4. Contenu du paquet 7. Mesures de précaution 8. Prélèvement et conservation des échantillons 13. Performances

## 15. Signification des symboles

### Symboles généraux

	Pour usage diagnostique <i>in vitro</i>
	Consulter le mode d'emploi
	Numéro de lot
	Date de péremption
	Température de stockage
	Numéro d'article
	Nombre de tests
	Date de fabrication
	Fabricant

### Symboles spécifiques des tests

	Cassette de test
	Réactif A
	Réactif B
	Pipette jetable
	Flacon de réaction
	Pointe de pipette
	Micropipette

## 16. Bibliographie

1. Lyerly, D.M. et al.: Clostridium difficile: Its disease and toxins. Clin. Microbiol. Rev. (1988); 1: 1-18.
2. Knoop, F.C. et al.: Clostridium difficile: Clinical disease and diagnosis. Clin. Microb. Rev. (1993); 6: 251-265.
3. Kelly, C.P. et al.: Clostridium difficile Colitis. New Engl. J. Med. (1994); 330: 257-262.
4. Sullivan, N.M. et al.: Purification and characterization of toxins A and B of Clostridium difficile. Infect. Immun. (1982); 35: 1032-1040.
5. Thomas, D.R. et al.: Postantibiotic colonization with Clostridium difficile in nursing home patients. J. Am Geriatr. Soc. 38, 415-420 (1990).
6. Bartlett, J.G.: Clostridium difficile: Clinical considerations. Rev. Infect. Dis. (1990); 12: 243-251.
7. Loeschke, K., Ruckdeschel, G.: Antibiotikaassoziierte Kolitis - aktualisiert. Internist (1989); 30: 345-353.
8. Enzensberger, R. et al.: Clostridium difficile-induzierte Enterokolitis. DMW (1986); 111: 56-59.
9. Cefai, C. et al.: Gastrointestinal carriage rate of Clostridium difficile in elderly, chronic care hospital patients. J. Hosp. Infect. (1988); 11: 335-339.
10. Samore, M.H. et al.: Wide diversity of Clostridium difficile types at a tertiary referral hospital. J. Infect. Dis. (1994); 170: 615-621.
11. Lipsett, P.A. et al.: Pseudomembranous colitis: A surgical disease? Surgery (1994); 116: 491-496.
12. Asha, N.J. et al.: Comparative analysis of prevalence, risk factors, and molecular epidemiology of Antibiotic –associated diarrhea due to Clostridium difficile, Clostridium perfringens, and Staphylococcus aureus. J. Clin. Microbiol. (2006); 44: 2785-2791.
13. Voth, D.E., Ballard, J.: Clostridium difficile toxins: Mechanism of action and role in disease. J. Clin. Microbiol. (2005); 18: 247-263.
14. Borgmann, S. et al.: Increased number of Clostridium difficile infections and prevalence of Clostridium difficile PCR ribotype 001 in southern Germany. Eurosurveillance (2008); Vol 13: Bartlett
15. Mc. Donald, L.C. et al.: An epidemic, toxin gene-variant strain of Clostridium difficile. N. Engl. J. Med. (2005); 353: 2433-2441.
16. Loo, V.G. et al.: A predominantly clonal multi-institutional outbreak of Clostridium difficile-associated diarrhea with high morbidity and mortality. N. Engl. J. Med. (2005); 353: 2442-2449.
17. Bartlett, J.G. , Gerding, D.N.: Clinical recognition and diagnosis of Clostridium difficile infection. Clin. Infect. Dis (2008); 46 (Suppl. 1): 12-18.