



T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI
HALK SAĞLIĞI GENEL MÜDÜRLÜĞÜ

CLOSTRIDIoidES DIFFICILE **İNFEKSİYONU TANISINA YAKLAŞIM**



Belkıs LEVENT

SB Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü

Mikrobiyoloji Referans Lab. ve Biyolojik Ürünler Dai. Bşk.

Ulusal Enterik Patojenler Referans Laboratuvarı

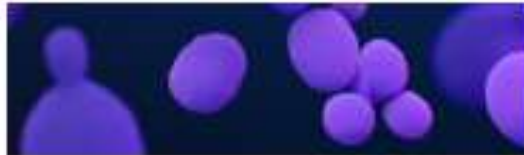
KLİMİK 2024 KONGRESİ, 6-9 MART 2024, ANTALYA

Sunum Planı

- *Clostridioides difficile* İnfeksiyonlarının Önemi
- Laboratuvar Tanı Yöntemleri ve Basamaklı Tanı Algoritmaları

Clostridioides difficile: Önemi

ANTIBIOTIC RESISTANCE THREATS IN THE UNITED STATES



The Threat of Antibiotic Resistance in the United States

CARBAPENEM-RESISTANT
ACINETOBACTER

CANDIDA AURIS

CLOSTRIDIOIDES DIFFICILE

CARBAPENEM-RESISTANT
ENTEROBACTERIACEAE

DRUG-RESISTANT
NEISSERIA GONORRHOEAE



*difficile*** is
antibiotic use and
antibiotic resistance:

1000

1000 deaths

18

with 3 threats

problem, affecting
infection prevention
efforts may
action now.

Learn more: www.cdc.gov/DrugResistance/Biggest-Threats.html



U.S. Department of
Health and Human Services
Centers for Disease
Control and Prevention

Revised Dec. 2019

Clostridioides difficile: Önemi

ANTIBIOTIC RESISTANCE THREATS
IN THE UNITED STATES

2019



The Threat of Antibiotic Resistance in the United States

Antibiotic resistance—when germs (bacteria, fungi) develop the ability to defeat the antibiotics designed to kill them—is one of the greatest global health challenges of modern time.

New National Estimate*

Each year, antibiotic-resistant bacteria and fungi cause at least an estimated:



2,868,700
infections



35,900 deaths



*Clostridioides difficile*** is related to antibiotic use and antibiotic resistance:



223,900
cases



12,800 deaths

New Antibiotic Resistance Threats List

Updated urgent, serious, and concerning threats—totaling 18

5 urgent threats

2 new threats

NEW: Watch List with **3** threats



Antibiotic resistance remains a significant One Health problem, affecting humans, animals, and the environment. Data show infection prevention and control is saving lives—especially in hospitals—but threats may undermine this progress without continued aggressive action now.

Learn more: www.cdc.gov/DrugResistance/Biggest-Threats.html



U.S. Department of
Health and Human Services
Centers for Disease
Control and Prevention

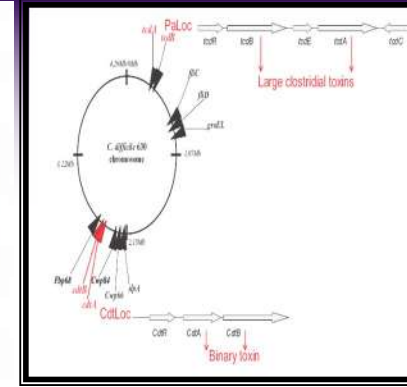
Revised Dec. 2019

CDİ: Değişen Epidemiyoloji

- CDİ sürekli evrimleşen küresel bir sağlık sorunudur
- Önceleri sadece **nozokomiyal bir patojen**
 - Antibiyotik ile ilişkili ishal
 - Yaşlılarda gözlenen bir enfeksiyon
 - Hastane kaynaklı ishallerin %15-25'inden sorumlu
- Son 20 yılda hastane ile ilişkili CDE'lerinde 19,3 kat, toplum kaynaklı CDE'de 5,3 kat artış gözlenmiş
- **Toplum kaynaklı CDİ vakaları** ABD, Avrupa ve Avustralya'da tüm vakaların 1/3'ü
 - Avrupa'da %15, Avustralya'da %30, ABD'de %40
- Yeni hipervirülan *C. difficile* ribotiplerinin tanımlanması
 - *C. difficile* Ribotip O27 (BI/ NAP1): Toksin A, toksin B ve Binary toksin pozitif, tcdC geninde 18 bp delesyonu ve 117. pozisyonda delesyon, artmış toksin A ve toksin B üretimi, florokinolon direnci
 - PCR ribotip O78: Daha genç yaşlarda, sıklıkla toplum kaynaklı, toksin A, toksin B ve Binary toksin pozitif, tcdC geninde 39 bp delesyonu ve 184. pozisyonda mutasyon, toksin tip V

Clostridioides difficile

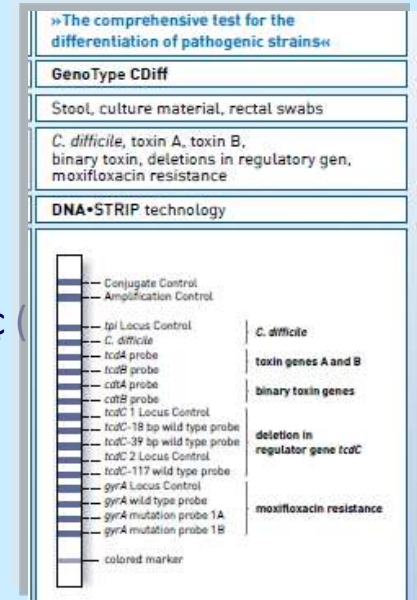
- ❑ Anaerob, sporlu, Gram pozitif çomak
- ❑ Vegetatif ve spor formları
- ❑ Sitotoksin ve enterotoksin üretimi
 - Toksin A, Toksin B ve Binary toksin
- ❑ Sağlıklı infantlarda normal flora elemanı
- ❑ Diğer enfeksiyonların tedavisinde kullanılan antibiyotiklere karşı doğal direnç
- ❑ Enfeksiyonların ~ %50'si 65 yaş altı, ölümlerin %90'dan fazlası 65 yaş üstü bireylerde
 - ❑ Florokinolonlar
- ❑ Hipervirülan suşların varlığı



	TcdB	TcdA	CDT	
Tip 1	+	+	-	En sık
Tip 2	+	-	-	%0.2-12
Tip 3	+	+	+	%1.6-8
Tip 4	+	-	+	Çok nadir
Tip 5	-	-	+	%1.6
Tip 6	-	-	-	%20

Türkiye'den Hipervirülan Suş Varlığı

- Eylül 2012-Kasım 2014
- Ankara'daki üç farklı laboratuvardan
- 61 *C. difficile* suşu
- Antimikrobiyal duyarlılık
 - Vankomisin ve metronidazole duyarlı (%100), moksifloksasine direnç
- Hipervirülan suş
 - GenoType CDiff (Hain Lifescience, Germany)
- Tüm suşlarda tcdA ve tcdB genleri pozitif
- Binary-toksin (cdtA ve cdtB) genleri %1.6 pozitif-tcdC geninde tek nükeotid değişikliği ve 54 bp delesyon
- 12 suшта (%19.6) tcdC geninde çeşitli tek nükleotid değişiklikleri



C. difficile Enfeksiyonları

❑ Asemptomatik taşıyıcılık

- ❑ Asemptomatik *C. difficile* kolonizasyonu sağlıklı bireylerde %4-15, hastaneye kabul edilen hastalarda %3-21

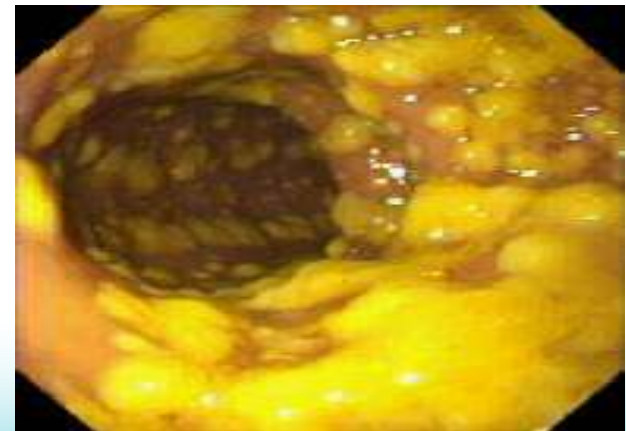
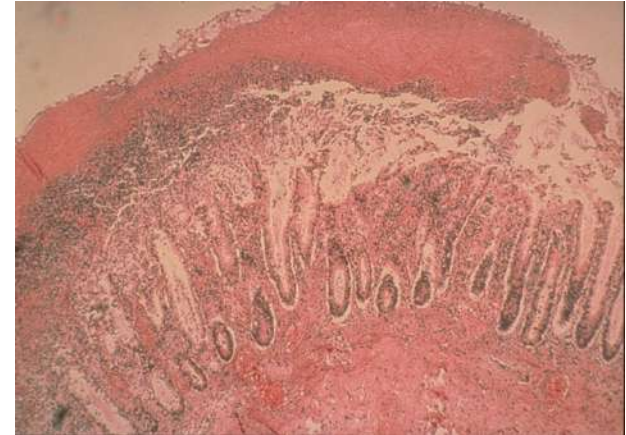
❑ Hastanede kazanılmış ishal

- ❑ Hafif kendini sınırlayan ishal
- ❑ Kolera benzeri
- ❑ Psödomembranöz enterokolit

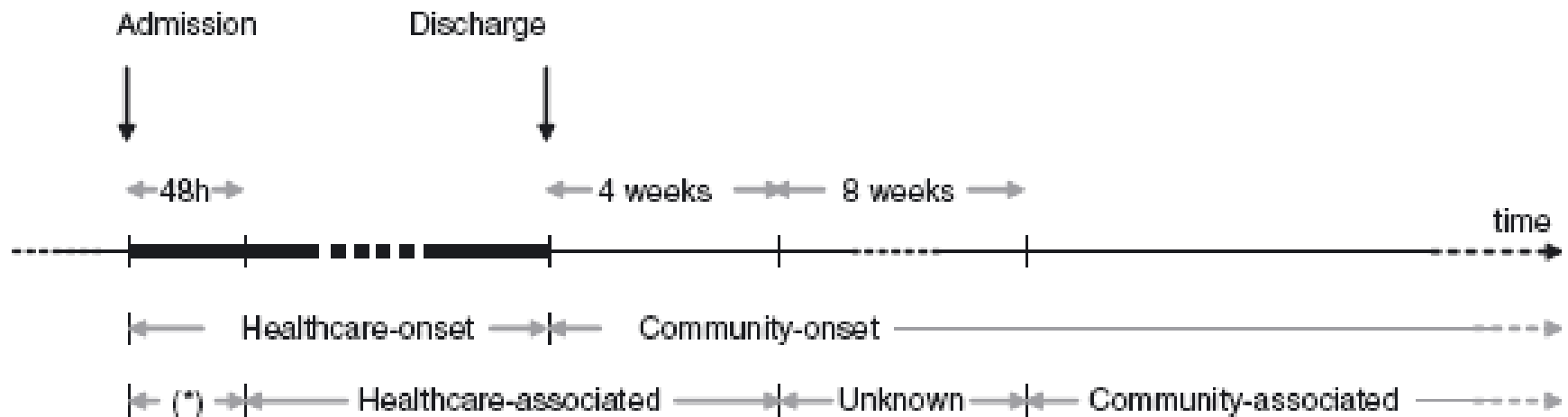
❑ Toplumdan kazanılmış ishal

❑ Komplikasyonlar

- ❑ Toksik megakolon (%65 mortalite)
- ❑ Kolon perforasyonu
- ❑ Protein kaybettiren enteropati
- ❑ Relapslar (%20)
- ❑ Reaktif artrit



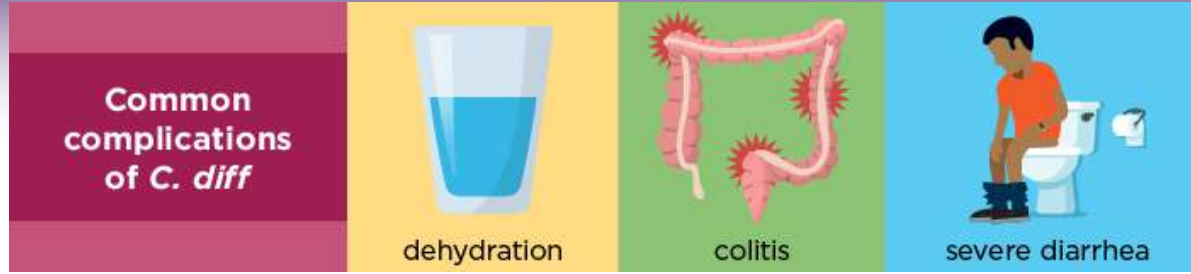
Hastane ve Toplum Kaynaklı CDI



(*) : - may be community- or healthcare-associated, depending on case's history.

- if healthcare-associated, may have been acquired in the same facility or imported from another.

Clostridioides difficile: Erken Tanının Önemi



- Komplikasyonların ve bulaşın önlenmesi
- Etkin tedavi
- Çevreye yayılım ve salgınların engellenmesi

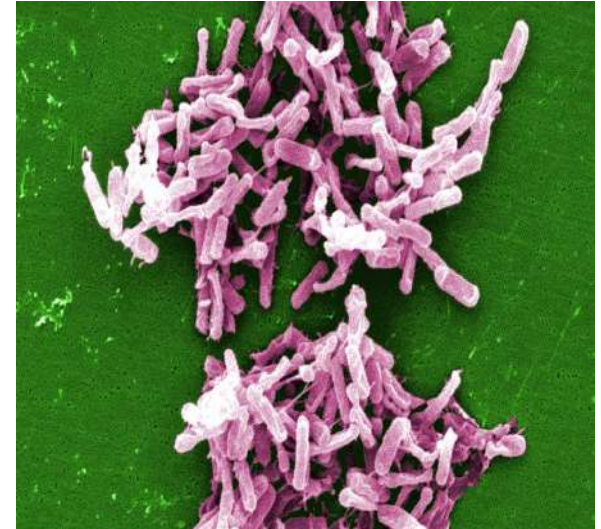


Sunum Planı

- *Clostridioides difficile* İnfeksiyonlarının Önemi
- Laboratuvar Tanı Yöntemleri ve Basamaklı Tanı Algoritmaları

***C. difficile* kimlerde test edilir?**








- Hastanede yatan 2 yaş üzeri ishaller hastalar
- Toplum kaynaklı 65 yaş üzeri ishaller hastalar
- Kliniđi uyumlu olan toplum kaynaklı 65 yaş altı hastalar



Asemptomatik hastalarda test önerilmez

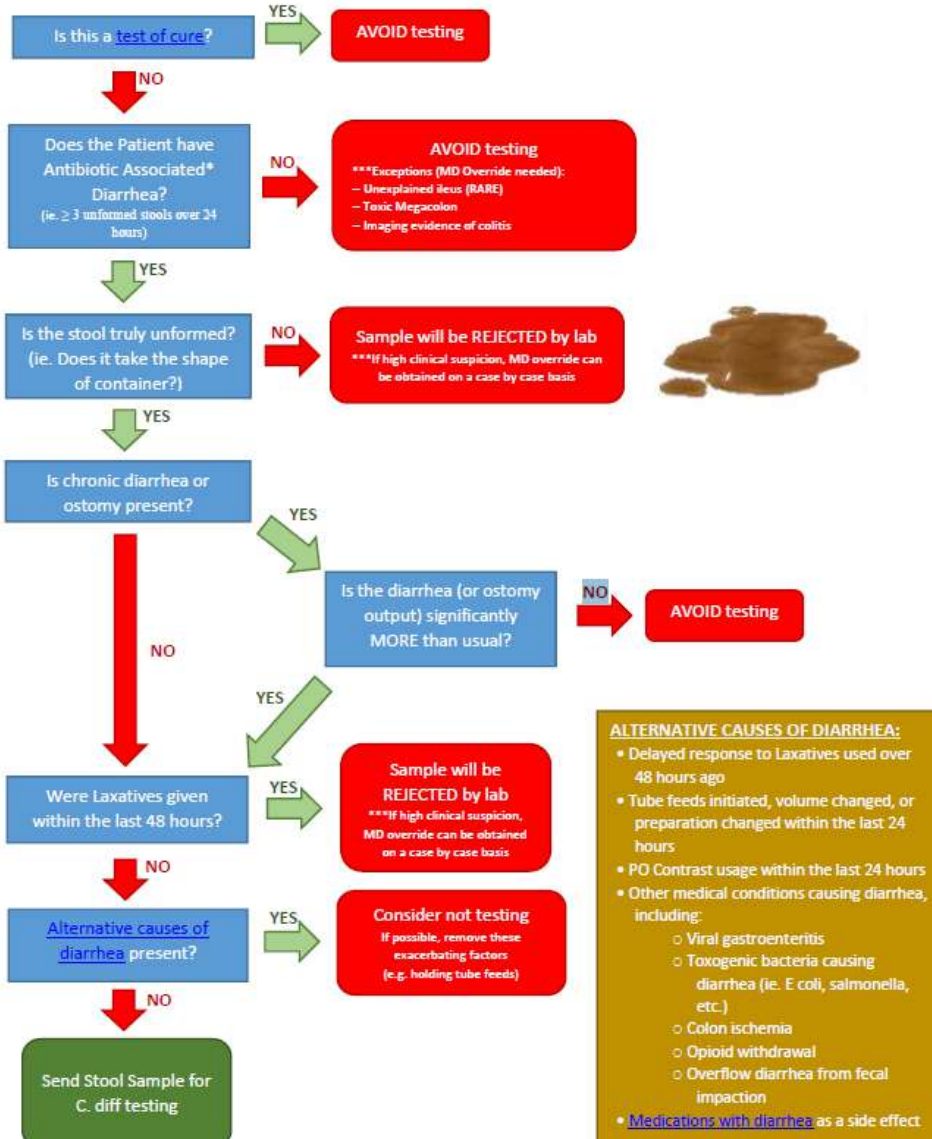
Dışkı Örneklerinin Alınması

- **Sulu, şekilsiz taze dışkı!**
- En az 5 ml (5-50 ml)
- Steril, geniş ağızlı, sızdırmaz vida kapaklı dışkı kabı
- Mümkünse tedavi öncesinde
- Örnekler hemen laboratuvara gönderilmeli ve hemen çalışılmalı
- Örneklerin laboratuvara taşınması;
 - ≤ 1 sa oda ısısında; ≤ 48 sa $+4^{\circ}\text{C}$; >48 sa kuru buz içinde
- Hemen çalışılmayacaksa ≤ 48 s $+4^{\circ}\text{C}$; >48 s - 20°C veya altında saklanmalı

Bristol Stool Form Scale		
Type	Description	Image
Type 1	Separate hard lumps, like nuts	
Type 2	Sausage-shaped but lumpy	
Type 3	Like a sausage or snake but with cracks on its surface	
Type 4	Like a sausage or snake, smooth and soft	
Type 5	Soft blobs with clear-cut edges	
Type 6	Fluffy pieces with ragged edges, a mushy stool	
Type 7	Watery, no solid pieces	

C. difficile Test İstem Kriterleri

Stanford University Hospital Recommendations for Collection of *C. difficile* testing:



*Antibiotic Associated = Antibiotics given at any time within the last 3-6 months

- CDİ için çeşitli test algoritmaları mevcut, ancak her testin sınırlılıkları vardır
 - PCR testi, klinikle uyumlu CDİ'yi asemptomatik *C.difficile* kolonizasyonundan ayırt edemez
- Sulu dışkılaması olan ve klinik olarak CDİ ile uyumlu vakalarda test istenmelidir
- Test istenmeden önce, olası diğer ishal nedenleri ekarte edilmelidir
 - Laksatif kullanımı, tüple beslenme, diğer GE etkenleri, kolon iskemisi, ilaç yan etkileri
- Tedaviye cevabı değerlendirmek için test istenmemelidir
- Rekürrens düşünülüyorsa test istenmelidir

C. difficile İnfeksiyonu Kriterleri

CDİ'nin Klinik Semptomları

(en az biri bulunmalıdır)

- İshal

(aşağıdakilerden en az biri)

- 24 saatte ≥ 3 şekilsiz dışkı
- Kronik ishallerde (ör. inflamatuvar barsak hastalığı) belirgin kötüleşme olması
- Yeni antibiyotik kullanımında, başlangıç dönemine göre ostomi bölgesinde artmış çıktı

VE

İshalin diğer olası nedenleri değerlendirilerek, bunların mevcut klinik tabloya sebep olmadığı kabul edilir

VEYA

- CDİ ile uyumlu radyolojik görüntüleme

- BT'de aktif kolit

VEYA

- Açıklanamayan ileus veya toksik megakolon
- İleus ve toksik megakolon CDİ'nin nadir gözlenen belirtileridir
- Komplike olmayan ileuslu hastalarda, diğer ileus nedenleri CDİ testi öncesinde akla getirilmelidir

CDİ'nin Diagnostik Test Pozitifliği

(en az biri bulunmalıdır)

- Dışkıda pozitif C. difficile toxin B PCR

VEYA

- CDİ ile uyumlu kolonoskopi bulguları

- Endoskopide psödomembranöz kolitin gözlenmesi, psödomembranların diğer nedenlerinin olasılıklarının daha düşük olması

CDİ: Bildirimi Zorunlu Bulaşıcı Hastalık

4 Mayıs 2019 CUMARTESİ

Resmî Gazete

Sayı: 30784

YÖNETMELİK

Sağlık Bakanlığından:

BULAŞICI HASTALIKLAR SÜRVEYANS VE KONTROL ESASLARI YÖNETMELİĞİNDE DEĞİŞİKLİK YAPILMASINA DAİR YÖNETMELİK

MADDE 1 – 30/5/2007 tarihli ve 26537 sayılı Resmî Gazete’de yayımlanan Bulaşıcı Hastalıklar Sürveyans ve Kontrol Esasları Yönetmeliğinin 17 nci maddesinin ikinci fıkrası, 19 uncu maddesinin birinci fıkrası ile 29 uncu maddesinin birinci fıkrasında yer alan “erken uyarı ve yanıt” ibareleri “erken uyarı ve cevap” olarak; Dördüncü Bölüm başlığında yer alan “Erken Uyarı ve Yanıt” ibaresi “Erken Uyarı ve Cevap” olarak; 19 uncu maddesinin başlığında yer alan “Erken uyarı ve yanıt” ibaresi “Erken uyarı ve cevap” olarak değiştirilmiştir.

MADDE 2 – Aynı Yönetmeliğin 1 inci maddesinin birinci fıkrasının (c) bendi aşağıdaki şekilde değiştirilmiştir.

“c) Bulaşıcı hastalık açısından erken uyarı ve cevap sisteminde yer alan olaylar ile uyarı düzeylerinin tanımlanması,”

MADDE 3 – Aynı Yönetmeliğin 3 üncü maddesinin birinci fıkrasında yer alan “13/12/1983 tarih ve 181 sayılı Sağlık Bakanlığının Teşkilat ve Görevleri Hakkında Kanun Hükmünde Kararname’nin 2 nci maddesinin (b) ve (d) bentleri ile 43 üncü maddesine ve ” ibaresi “10/7/2018 tarihli ve 30474 sayılı Resmî Gazete’de yayımlanan 1 sayılı Cumhurbaşkanlığı Teşkilatı Hakkında Cumhurbaşkanlığı Kararnamesinin 361 inci maddesinin birinci fıkrasının (c)

“EK-1

BİLDİRİME ESAS BULAŞICI HASTALIKLAR LİSTESİ

1. Akut barsak enfeksiyonu
2. Ağır akut solunum yetmezliği sendromu (SARS)
3. Avian influenza enfeksiyonu - İnsanlarda (A/H5, A/H7 ve A/H9)
4. Batı Nil virüsü enfeksiyonu
5. Boğmaca
6. Botulismus, besin kaynaklı
7. Bruselloz
8. *Campylobacter* spp. enfeksiyonu (*Campylobacter jejuni/coli*)
9. Chikungunya ateşi
10. *Chlamydia trachomatis* (cinsel yolla bulaşan enfeksiyon etkeni olarak)
11. ***Clostridium difficile* enfeksiyonu**
12. *Cryptosporidium* spp. enfeksiyonu

CLOSTRIDIUM DIFFICILE ENFEKSİYONU

Klinik Tanımlama

Aşağıdaki klinik kriterlerden en az birinin bulunmasıdır:

1. İshalli dışkılama veya toksik megakolon
2. Alt gastrointestinal endoskopiyle gösterilen psöd membranöz kolit
3. Endoskopi, kolektomi veya otopsi örneklerinde *Clostridium difficile* enfeksiyonunun (ishalle birlikte veya olmaksızın) kolondaki histopatolojik özelliklerinin gösterilmesi

[NOT: 2 yaş altındaki çocuklarda dışkısında *Clostridium difficile* asemptomatik olarak kolonize olabileceğinden dışkıda tespit edilebilir].

Epidemiyolojik Kriterler

Tanımlanmamıştır.

Laboratuvar Kriterleri

Dışkı örneğinden;

1. *Clostridium difficile* toksin A ve/veya B toksinlerinin saptanması
2. *Clostridium difficile* toksin geninin moleküler yöntemlerle saptanması
3. Toksikojenik bakterinin izolasyonu

Vaka Sınıflaması

Şüpheli Vaka: Tanımlanmamıştır.

Olası Vaka: Tanımlanmamıştır.

Kesin Vaka: Laboratuvar kriterlerinden en az biri ile doğrulanmış tanı

[NOT: *Clostridium difficile* enfeksiyonundan şüphelenildiği durumlarda toksin araştırması, antimikrobiyal duyarlılık testleri ve moleküler epidemiyolojik analizler için klinik örnekler ve/veya izolatlar Ulusal Referans Laboratuvarına gönderilmelidir.]

REHBERLER



C. difficile : Kesin Tanı

Dışkı incelemesinde

- *C. difficile* toksin A ve/veya B toksinlerinin saptanması
- *C. difficile* toksin geninin moleküler yöntemlerle saptanması
- Toksik *C. difficile* bakterisinin izole edilmesi

Laboratuvar Tanı Yöntemleri

Toksin Testleri

- Hücre kültürü toksin nötralizasyon testi
- ELISA: Toksin A, Toksin B veya Toksin A+B
- Lateks aglütinasyon
- CIE

Toksik C. *difficile* kültürü

Antijen Testleri

- Glutamat dehidrogenaz (GDH)

NAAT (Nükleik asit amplifikasyon testleri)

- PCR
- LAMP

Laboratuvar Tanı Yöntemleri

ELISA

- Toksin A+B, sadece toksin A
- Glutamat dehidrogenaz
- Duyarlılık ve özgüllük değişken

İmmünokromatografik testler

- Duyarlılıkları düşük
- Toksin A+B ve GDH

Lateks aglütinasyon testleri

- Duyarlılıkları düşük

Counter immünoelektroforez (CIE)

- Duyarlılık ve özgüllükleri çok düşük

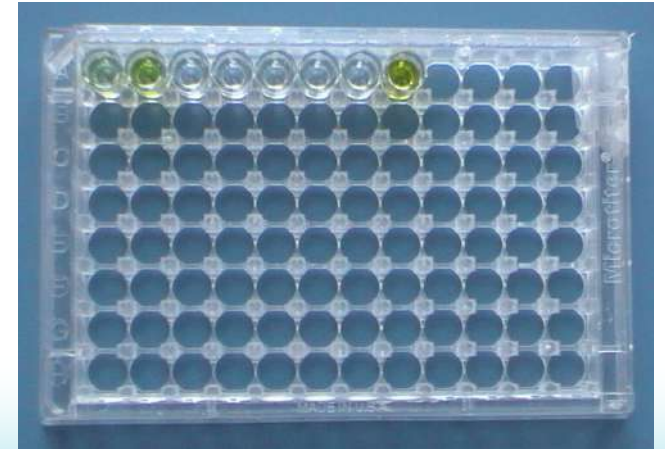
ELISA ve İmmünokromatografik testler

- Toksin A
- Toksin A+B
- Glutamat dehidrogenaz



- Çabuk sonuç verir
- Kolay uygulanır
- Tek ya da çok sayıda örnek çalışılabilir
- Özgül
- Ucuz

- Duyarlılık: %32-99
- Özgüllük: %92-100
- PPD: %76-96
- NPD: %88-100



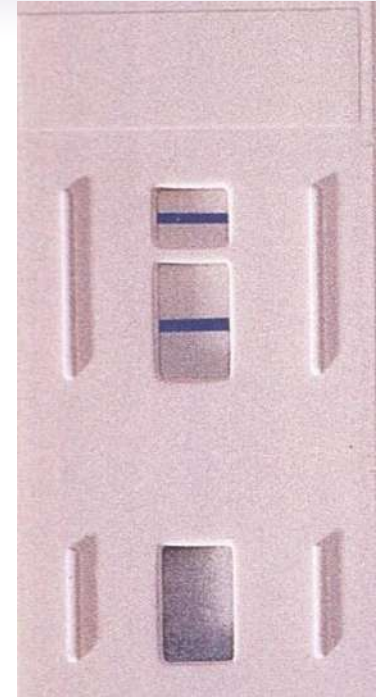
Clostridioides difficile toksin testleri

- ❑ *Clostridioides difficile* toksininin stabil olmaması
 - ❑ Oda ısısında degrade olması
 - ❑ Dışkı örneği alındıktan 2 saat sonra saptanamayabilir
 - ❑ Örnek uygun şekilde test edilmez veya test edilene kadar buzdolabında saklanmazsa yalancı negatif sonuçlar gözlenebilir

- ❑ Mutasyonlar
 - ❑ Toksin A-/ B+ suşlar
 - ❑ Binary toksin + suşlar

Glutamat dehidrogenaz testi

- *Clostridium spp.* hücre yüzey proteini
- Dışkıda toksin A ve B'den daha dayanıklı
- Hızlı (<1 hr)
- Tüm pozitif örneklerde doğrulama gerekli
- Tek başına non-spesifik olduğundan toksin saptayan testler, PCR veya toksijenik kültür gibi testlerle birlikte iki aşamalı test algoritmaları kullanılmalıdır



CDI Tanısında Kullanılan Laboratuvar Testleri

- Dışkıda toksin A ve B'yi saptayan *C. difficile* ticari kitleri hücre kültürü toksin testi ile karşılaştırıldığında;

Testler	Duyarlılık	Özgüllük
Meridian Premier	0.95 (0.86–0.97)	0.97 (0.95–0.98)
TechLab Tox A/B II	0.83 (0.82–0.85)	0.99 (0.98–1.00)
TechLab Tox A/B Quik Chek	0.84 (0.81–0.87)	1.00 (0.99–1.00)
Remel Xpect	0.82 (0.75–0.89)	0.96 (0.95–0.98)
Meridian Immunocard	0.90 (0.84–0.92)	0.99 (0.98–1.00)
BioMérieux VIDAS	0.76	0.93

Toksin Saptanması: Hücre Kültürü Toksin Nötralizasyon Testi

❑ Hücre kültürü toksin nötralizasyon testi

❑ Altın standart!

❑ Toksin B saptanır

❑ Duyarlı ve özgül

İshalli hastalarda PCR veya toksijenik kültüre göre daha az duyarlı

❑ Tecrübe ve ekipman

❑ Pahalı

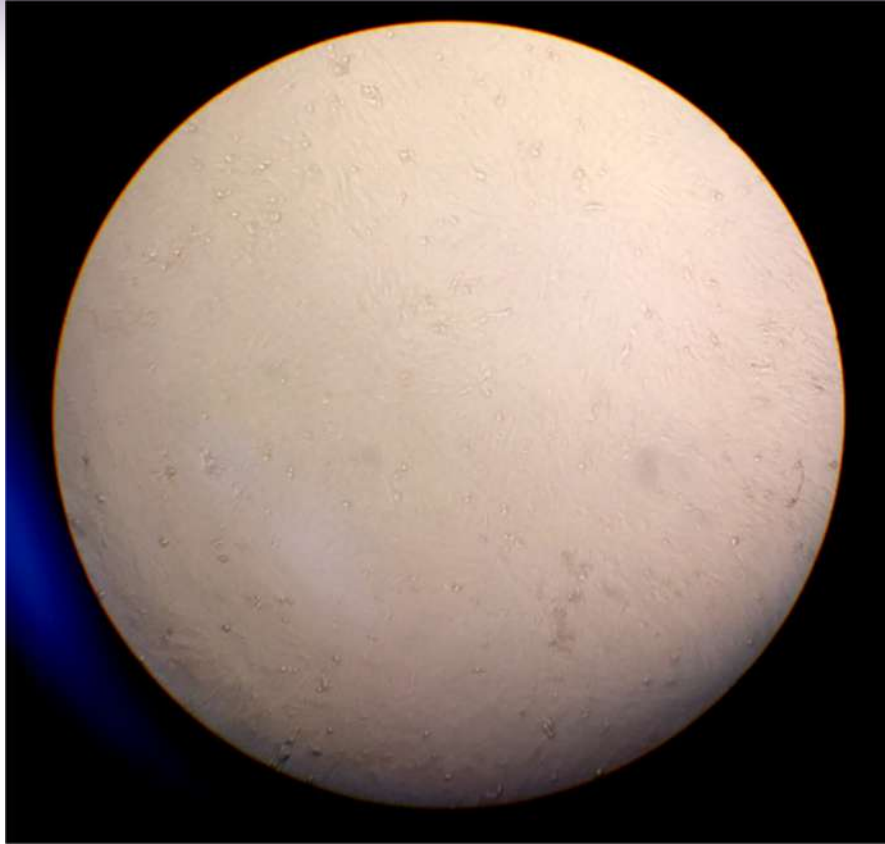
❑ 48 saatte sonuçlanır

❑ Sitopatik etki incelenir

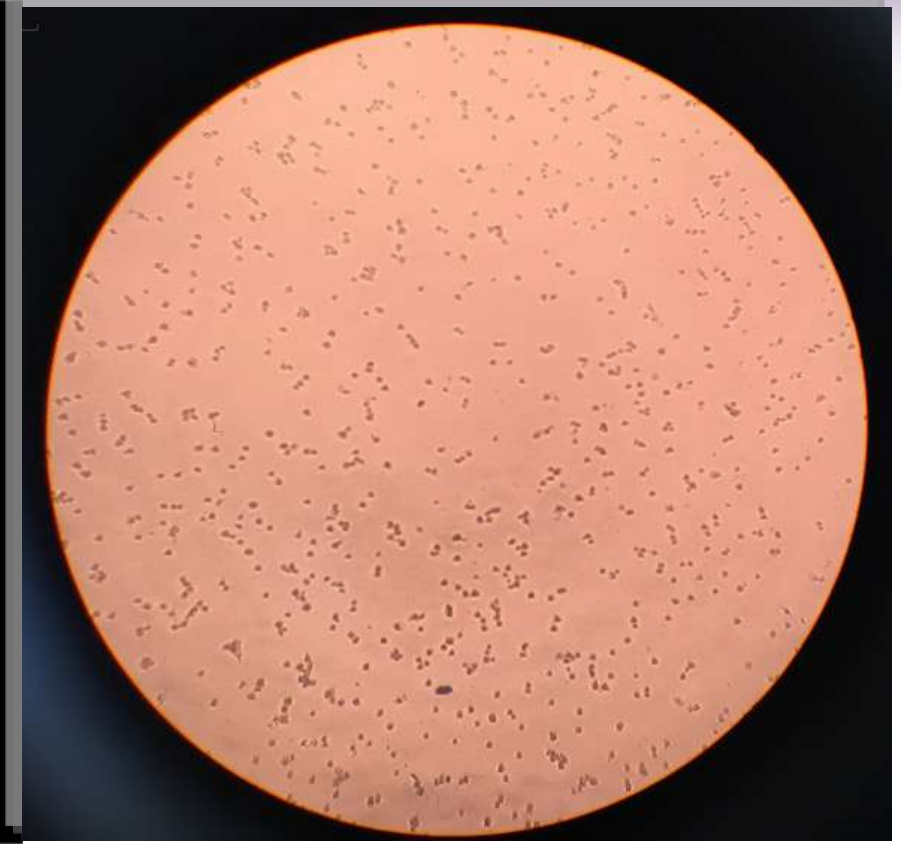
❑ Nötralizan antikolar (anti-*C. sordellii* antiserum) eklendiğinde bu sitopatik etki ortadan kalkar



Toksin B'nin Vero Hücrelerine Sitopatik Etkisi



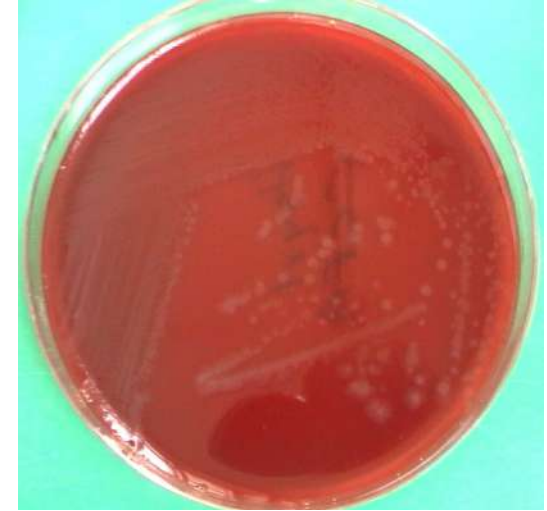
Normal Vero hücresi



Toksin B'ye bağı sitopatik etki

C. difficile kültürü

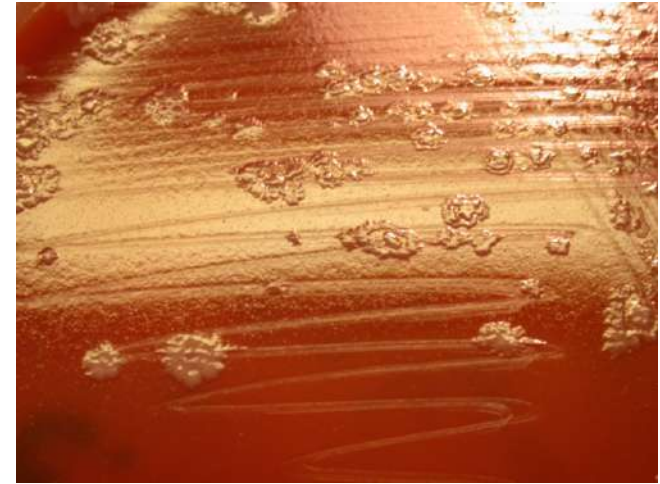
- Sikloserin Sefoksitin Fruktoz Agar (CCFA), kromojenik agar vb
- Duyarlılığı yüksek
- Epidemiyolojik çalışmalarda tercih edilir
- Geç sonuç verir (4 gün)
- Hücre kültürü nötralizasyon testi kadar özgül değil
- Suşların tiplendirilmesine olanak sağlar
- Toksik kültür
 - Toksin varlığı araştırılmalı
- Alkol şok veya Isı şok yöntemi
- Ekim öncesi besiyerlerinin anaerob ortamda indirgenmesi



C. difficile kolonilerinin
CCFA besiyerindeki
görünümü

C. difficile: İdentifikasyon Testleri

- Koloni morfolojisi
 - Değişik büyüklüklerde (1-5 mm), hemolizsiz, R veya S koloniler
 - Buzlu cam görünümünde
 - Sarımsı beyaz koloniler
- At dışkısına benzer koku
- Subterminal sporlu, Gram pozitif çomaklar
- 365 nm uv ışıkta yeşil-sarı floresans
- Lateks aglütinasyon testi
- MALDI-TOF**



MALDI TOF MS



RESEARCH ARTICLE

High Molecular Weight Typing with MALDI-TOF MS - A Novel Method for Rapid Typing of *Clostridium difficile*

Kristina Rizzardi, Thomas Åkerlund*

Department of Microbiology, Public Health Agency of Sweden, Solna, Sweden

* thomas.akerlund@folkhalsomyndigheten.se

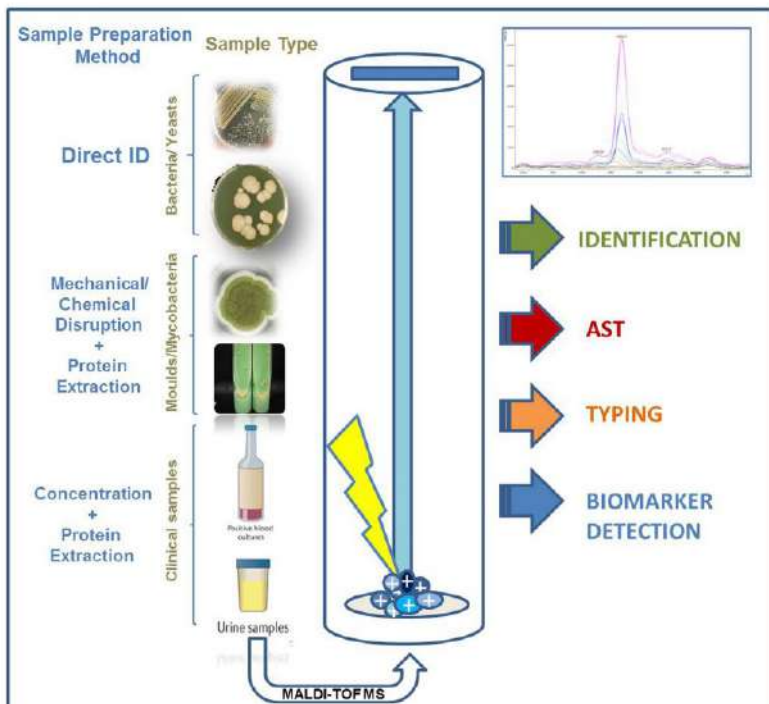
Abstract

Clostridium difficile strains were typed by a newly developed MALDI-TOF method, high molecular weight typing, and compared to PCR ribotyping. Among 500 isolates representing 59 PCR ribotypes a total of 35 high molecular weight types could be resolved. Although less discriminatory than PCR ribotyping, the method is extremely fast and simple, and supports for cost-effective screening of isolates during outbreak situations.



- MALDI-TOF ile 30-50 kDa 'luk yüksek moleküler ağırlıklı protein profilleri ve ardından 2-20 kDa'luk protein ekstraktlarının analizi referans yöntem olan ribotiplendirme ile karşılaştırılmış
- Genotiplerin ayrımı %100 doğrulukla yapılmış

MALDI TOF MS



— clusters 1 : *C.difficile* *tcdA*⁺, *tcdB*⁺, *cdtA*⁻, *cdtB*⁻
 - - - - - clusters 2 : *C.difficile* *tcdA*⁺, *tcdB*⁺, *cdtA*⁺, *cdtB*⁺

- Yüksek molekül ağırlıklı MALDI-TOF tiplendirme yöntemi referans yöntem olan PCR ribotiplendirme ile karşılaştırıldığında ayırım gücü daha düşük olmakla birlikte basit, hızlı ve salgın durumlarında izolatların taranmasında maliyet etkin olarak bir yöntem

Rizzardi ve Åkerlund, PLoS One, 2015

- Binary toksin üreten ve üretmeyen *C. difficile* genotiplerinin ayırımı %100 doğrulukla yapılmış

Kuo ve ark, Diagn Microbiol Infect Dis, 2015

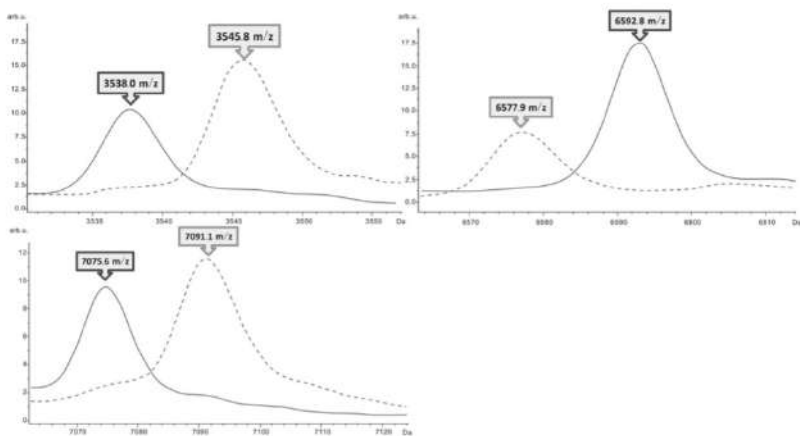


Fig. 2. The 6 peaks used to define cluster 1 (*C. difficile* *tcdA*⁺, *tcdB*⁺, *cdtA*⁻, *cdtB*⁻) and cluster 2 (*C. difficile* *tcdA*⁺, *tcdB*⁺, *cdtA*⁺, *cdtB*⁺), which were generated by ClinProTools with the genetic algorithm, were 3538.0 m/z, 3545.8 m/z, 6577.9 m/z, 6592.8 m/z, 7075.6 m/z, and 7091.1 m/z. The signals of 3538.0 m/z, 6592.8 m/z, and 7075.6 m/z were observed in cluster 1 spectra but not in cluster 2 spectra, and those of 3545.8 m/z, 6577.9 m/z, and 7091.1 m/z were observed in cluster 2 spectra but not in cluster 1 spectra. The absolute intensities of the ions were shown on the y axis, and the masses (m/z) of the ions are shown on the x axis. The m/z values represent the mass-to-charge ratio.

Toksijenik Kültür

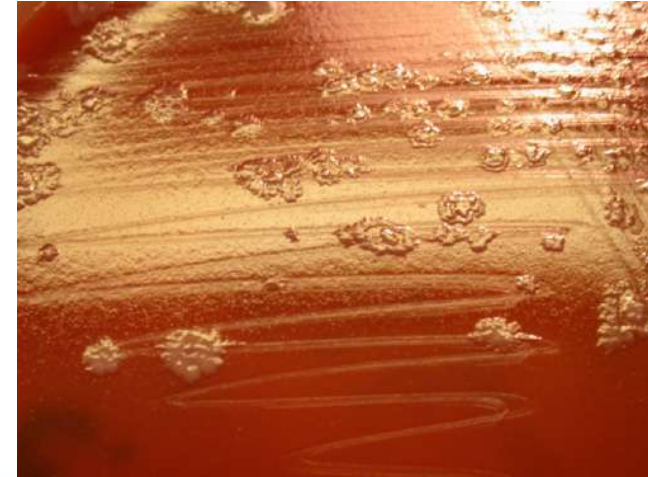
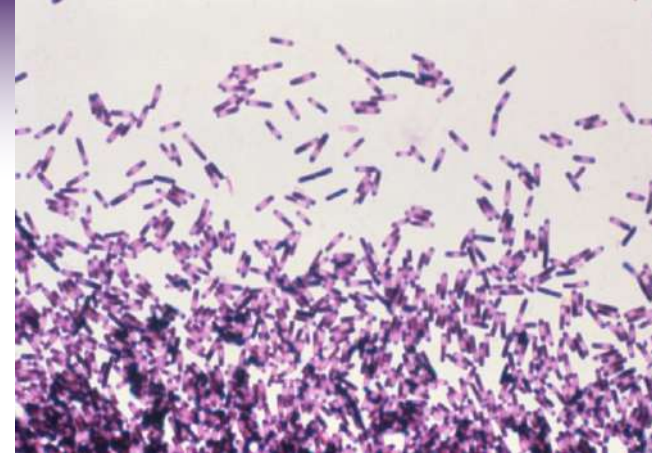
❑ *C. difficile* suşu izole edilip, üreyen suştan toksin varlığının gösterilmesi

➔ **TOKSİJENİK KÜLTÜR**

❑ Beyin-kalp infüzyon sıvı besiyerinde (BHI) 37°C'de 24-248 saat inkübasyon sonrası toksin araştırması

❑ Sitotoksin nötralizasyon kadar spesifik değil

❑ Uzun sürede sonuçlanma (4 gün)



C. difficile: Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri

Anaerobic bacteria

EUCAST Clinical Breakpoint Tables v. 14.0, valid from 2024-01-01

For species not listed below, see EUCAST Guidance Document on how to test and interpret results when there are no breakpoints

Expert Rules and Expected Phenotypes

For abbreviations and explanations of breakpoints, see the Notes sheet

MIC determination (agar dilution)

Medium: Fastidious Anaerobe Agar + 5% defibrinated horse blood (FAA-HB)

Inoculum: 10⁵ CFU/spot

Incubation: Anaerobic environment, 35-37°C, 48h

Reading: Unless otherwise stated, read MICs at the lowest concentration of the agent where a noticeable difference is seen in visible growth between the test and control plate.

Quality control: *Bacteroides fragilis* ATCC 25285 and *Clostridium perfringens* ATCC 13124

For control of the inhibitor component of beta-lactam inhibitor combinations, see EUCAST QC Tables.

See disk diffusion methodology for how to monitor the anaerobic atmosphere with *Clostridium perfringens* DSM 25589.

Disk diffusion (EUCAST standardised disk diffusion method)

Medium: Fastidious Anaerobe Agar + 5% defibrinated horse blood (FAA-HB). The plates should be dried prior to inoculation (at 20-25°C overnight or at 35°C, with the lid removed, for 15 min).

Inoculum: McFarland 1.0

Incubation: Anaerobic environment, 35-37°C, 18±2h

Reading: Unless otherwise stated, read zone edges as the point showing no growth viewed from the front of the plate with the lid removed and with reflected light. See pictures below and the EUCAST Reading Guide for disk diffusion of anaerobic bacteria for further information.

Quality control: *Bacteroides fragilis* ATCC 25285 and *Clostridium perfringens* ATCC 13124. For control of the inhibitor component of beta-lactam inhibitor combination disks, see EUCAST QC Tables.

Clostridium perfringens DSM 25589 with a metronidazole 5 µg disk to monitor the anaerobic atmosphere.

Anaerobic bacteria

EUCAST Clinical Breakpoint Tables v. 14.0, valid from 2024-01-01

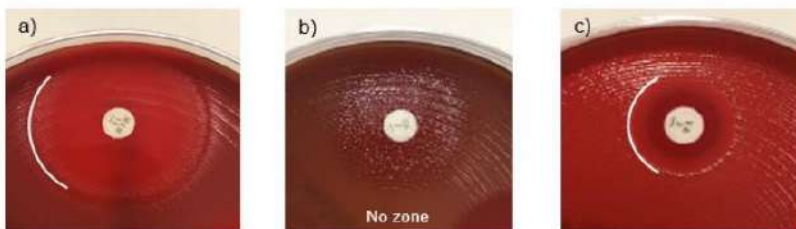
For species not listed below, see EUCAST Guidance Document on how to test and interpret results when there are no breakpoints

Expert Rules and Expected Phenotypes

For abbreviations and explanations of breakpoints, see the Notes sheet

Clostridioides difficile

Antimicrobial agent	MIC breakpoints (mg/L)			Disk content (µg)	Zone diameter breakpoints (mm)			Notes
	S ≤	R >	ATU		S ≥	R <	ATU	
Vancomycin	2 ¹	2 ¹			IP	IP		1. The breakpoints are based on epidemiological cut-off values (ECOFFs) and apply to oral treatment of <i>C. difficile</i> infections. There are no conclusive clinical data regarding the relation between MICs and outcomes. 2. Fidaxomicin breakpoints and ECOFF have not been set because the available data show major variation in MIC-distributions between studies.
Fidaxomicin	0.5 ¹	0.5 ¹			IP	IP		
Metronidazole	2 ¹	2 ¹			IP	IP		



Examples of inhibition zones for anaerobic bacteria.

- If haze within the zone occurs, read the most obvious zone edge. Tilt the plate towards you to better define the obvious zone edge.
- Isolated colonies within the inhibition zone should be taken into account. For clindamycin, it is particularly important to examine zones carefully for colonies growing within the zone.
- Ignore haemolysis when reading zones.

MIC

Gradyent test

Marmara Üniversitesi Hastanesi'nde İzole Edilen *Clostridium difficile* Kökenlerinin Antibiyotiklere Direnç Durumu*

Nurver Toprak Ülger¹, Arzu İlki¹, Öncü Akgül¹, Güner Soyletir¹

¹Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul-Türkiye

Yazışma Adresi / Address reprint requests to: Nurver Toprak Ülger
Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul-Türkiye
Telefon / Phone: +90-216-414-4732 Faks / Fax: +90-216-414-4732 Elektronik posta adresi / E-mail address: nurverulger@yahoo.com
Kabul tarihi / Date of acceptance: 28 Ekim 2011 / October 28, 2011

ÖZET

Marmara Üniversitesi Hastanesi'nde izole edilen *clostridium difficile* kökenlerinin anti-biyotiklere direnç durumu

Amaç: Bu çalışmada Marmara Üniversitesi Hastanesi'nde izole edilen toksijenik *Clostridium difficile* kökenlerinin antibiyotiklere direnç durumunun araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntemler: Mikrobiyoloji Laboratuvarına Nisan 2008- Ocak 2010

ABSTRACT

Antimicrobial resistance patterns of *Clostridium difficile* strains isolated from Marmara University Hospital

Objective: This study was designed to investigate antimicrobial resistance patterns of toxigenic *Clostridium difficile* strains isolated from Marmara University Hospital.

Methods: The stool specimens ordered for detection of

- Nisan 2008-Ocak 2010
- Metronidazol, meropenem, vankomisine duyarlı
- Klindamisine %62, ampisiline %68 direnç

Tablo II. *C.difficile* İzolatlarının Antibiyotiklere Duyarlılık Profili, MİK Aralıkları, MİK₅₀ ve MİK₉₀ Değerleri ve Klinik Sınır Değerler

Antimikrobiyal ilaç	Klinik sınır değerler (mg/L)			MİK aralıkları (mg/L)	MİK ₅₀ (mg/L)	MİK ₉₀ (mg/L)	Duyarlılık profili n (%)		
	Duyarlı	Orta duyarlı	Dirençli				Duyarlı	Orta duyarlı	Dirençli
Metronidazol	≤ 4		> 4	0.125-1	0.5	0.5	93 (100)	0	0
Vankomisin	≤ 2		> 2	0.125-1	0.25	0.5	93 (100)	0	0
Meropenem	≤ 2		> 8	0.5-2	2	2	93 (100)	0	0
Ampisilin sulbaktam	≤ 4		> 8	0.25-2	1	2	93 (100)	0	1
Seftriakson*	≤ 16	32	≥ 64	4-64	16	32	54 (58.1)	37 (39.8)	2 (2.1)
Tetrasiklin*	≤ 4	8	≥ 16	0.125-0.5	0.25	0.5	93 (100)	0	0
Moksifloksasin*	≤ 2	4	≥ 8	2-64	4	4	19 (20.4)	71 (76.3)	3 (3.3)
Klindamisin*	≤ 2	4	≥ 8	1-> 256	4	8	33 (35.5)	40 (43)	20 (21.5)
Tigesiklin		-		0.062-0.25	0.125	0.25		-	
Eritromisin		-		0.5-> 64	1	2		-	
Linezolid		-		0.5-4	2	2		-	
Doksisiklin		-		0.031-2	0.062	0.125		-	

* Seftriakson, tetrasiklin, moksifloksasin ve klindamisin için değerlendirilmede CLSI (M11-A7) sınır değerleri kullanılmıştır.

- 2012-2016 yıllarında izole edilen 93 toksijenik *C. difficile* izolatının antibiyotik duyarlılıkları
- İzolatların tümü metronidazol, vankomisin, ampisilin-sulbaktam, tetrasiklin ve meropeneme duyarlı bulunmuş,
- Seftriaksona %58.1, klindamisine %35.5, ve moksifloksasine %20.4 duyarlı,
- MİK50 ve MİK90 değerleri tigesiklin 0.125-0.25 mg/L, eritromisin 1-2 mg/L, linezolid 2-2 mg/L, doksisiklin 0.062-0.125 mg/L olarak tespit edilmiştir.

NAAT (Nükleik Asit Amplifikasyon Testleri)

- In house veya ticari
- Toksin B/ Binary toksin
- Hızlı sonuç
 - 45 dk-3 saat

Test	Süre
Cepheid	45 dk
BD GeneOhm	75-90 dk
Gen Probe	3 sa
Meridian	45 dk

- Duyarlı ve özgül



Table 1

Classification of commercially available NAAT for *Clostridium difficile* (not exhaustive)

Method	Target		
Detection of a single target		Detection of several targets	
Illumigene[®] C. difficile (Meridian Bioscience)	<i>tcdA</i>	GenoType[®] C. difficile (Hain Lifescience)	<i>tcdA, tcdB</i> , several deletions in <i>tcdC</i> (including $\Delta 117$) <i>cdtA, cdtB, gyrA, tpi</i>
AmpliVue[®] (QUIDELMolecular)	<i>tcdA</i>	IMDx[®] C. difficile (IntelligentMDx)	<i>tcdA, tcdB</i>
Simplexa[™] C. difficile	<i>tcdB</i>	Xpert[®] C. difficile (Cepheid)	<i>tcdB, cdt</i> , deletion in position 117 in <i>tcdC</i>
Universal Direct (FOCUS Diagnostics)		Verigene[®] C. difficile Test (Nanosphere)	<i>tcdA, tcdB</i> , binary toxin, deletion in position 117 in <i>tcdC</i>
Portrait Toxigenic C. difficile Assay (Portrait, Great Basin)	<i>tcdB</i>	RIDA[®] GENE Clostridium difficile & Toxin A/B (R-biopharm)	<i>tcdA, tcdB</i>
BD GeneOhm[™] C. difficile Assay (BD Diagnostics)	<i>tcdB</i>	Genspeed[®] C. difficile Onestep (Genspeed Biotech)	<i>gdh, tcdA, tcdB</i> , binary toxin
BD MAX[™] C. difficile (BD Diagnostics)	<i>tcdB</i>	Quidel[®] Molecular	<i>tcdA, tdcB</i>
COBAS[™] C. difficile (Roche)	<i>tcdB</i>	Direct C. difficile Assay (Quidel Corporation)	
Prodesse ProGastro Cd assay (Gen Probe)		Detection of several pathogens	
ICEplex[®] C. difficile Kit (PrimeraDax)	<i>tcdB</i>	xTAG[®] Gastrointestinal Pathogen Panel (Theradiag)	9 bacteria (including <i>C. difficile tcdA tcdB genes</i>) 3 viruses 3 parasites
		Seeplex[®] Diarrhea ACE Detection (Seegene)	22 bacteria (including <i>C. difficile tcdB gene</i>) 4 viruses
		FilmArray[®] Gastrointestinal Panel (Biomerieux)	20 bacteria (including <i>C. difficile tcdA tcdB genes</i>) 5 viruses 4 parasites
		RIDA[®] GENE Gastro Panel (R-biopharm)	10 bacteria (including <i>C. difficile tcdA tcdB genes</i>) 5 viruses 4 parasites

Table 2 Sensitivity and specificity of nucleic acid amplification test assays for the detection of *Clostridium difficile*

Assay	Sensitivity	Specificity	Ref.
Cepheid Xpert <i>C. difficile</i>	90%-100%	92.9%-98.6%	[87,89,91]
IMDx <i>C. difficile</i> for Abbott m2000 Assay	62.1%-92.8%	99.4%-100%	[92,93]
BD Max Cdiff Assay	81.6%-96.9%	95%-95.8%	[92,93]
Portrait Toxigenic <i>C. difficile</i> Assay	98.2%	92.8%	[95]
Quidel Lyra Direct <i>C. difficile</i> Assay	82.1%-85.7%	96.9%-98.3%	[96]
Verigene <i>C. difficile</i> nucleic acid test	95.2%-98.7%	87.5%-99.4%	[97,128]
Simplexa <i>C. difficile</i> Universal Direct real time PCR	87%-98%	100%	[99,128]
AmpliVue <i>C. difficile</i> assay	91%-96%	89%-100%	[99,100]
Illumigene <i>C. difficile</i> assay	93.3%-100%	95.1%-100%	[95,101]
BD GeneOhm Cdiff assay	89.6%-97.4%	96.7%-98.5%	[95,103]
ProGastro Cd assay	77.93%-100%	93.4%-99.2%	[103,104]

Table 3 Summary of non Food and Drug Administration-approved multiplex assays that detect *Clostridium difficile*

Assay	Company	Pathogens detected	Technology	Ref.
Gastrofinder Smart 17 Fast	PathoFinder	9 bacteria, 4 viruses and 4 parasites	Multiplex Real-time PCR	[129]
EasyScreen Enteric assays	Genetic Signature	7 bacteria, 8 viruses and 5 parasites	3base Technology	[130]
RIDA [®] GENE	R-BioPharma AG	11 bacteria, 4 viruses and 4 parasites	Multiplex Real-time PCR	[131]
FTD [®] Bacterial Gastroenteritis	Fast-Track Diagnostics	9 bacteria, 5 viruses and 3 parasites	Multiplex Real-time PCR	[132]
CLART EnteroBac panel	Genomica	19 bacteria	Low-density microarray	[133]
Faecal Bacteria	AusDiagnostics	8 bacteria, 4 viruses and 3 parasites	Multiplex Tandem PCR technology	[134]
Seeplex Diarrhea ACE	Seegene	10 bacteria and 4 viruses	Dual priming oligonucleotide technology	[135]



Clostridioides (Clostridium) difficile (including epidemiology)

Evaluation of a nucleic acid amplification assay for the diagnosis of *Clostridioides difficile* infection



Ozlem Koyuncu-Ozyurt^a, Betil Ozhak^{a,*}, Dilara Ogunc^a, Gozde Ongut^a, Filiz Gunseren^b,
Levent Donmez^c, Dilek Colak^a

^a Department of Clinical Microbiology, Akdeniz University Faculty of Medicine, Antalya, Turkey

^b Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Akdeniz University Faculty of Medicine, Antalya, Turkey

^c Department of Public Health, Akdeniz University Faculty of Medicine, Antalya, Turkey

ARTICLE INFO

Article history:

Received 12 December 2018

Received in revised form

16 April 2019

Accepted 26 June 2019

Available online 27 June 2019

Handling Editor: Stuart Johnson

Keywords:

Clostridioides difficile

Healthcare-associated diarrhea

BD MAX cdiff

Toxigenic culture

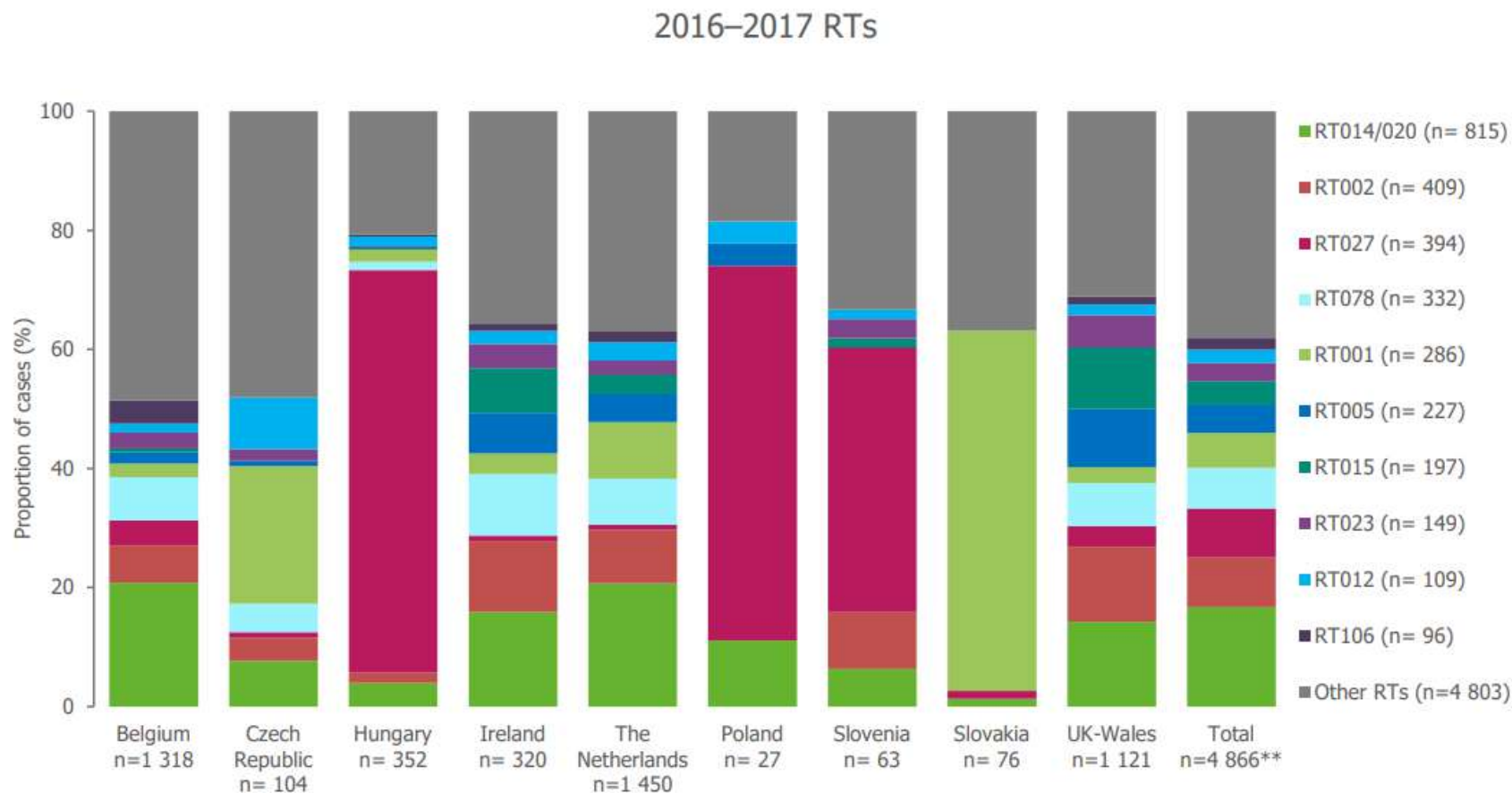
ABSTRACT

Clostridioides difficile is the leading cause of healthcare-associated diarrhea and the laboratory diagnosis of *Clostridioides difficile* infection (CDI) continues to be challenging. Accurate and rapid identification of *C. difficile* will reduce unnecessary antibiotic use and ensure contact isolation to control the spread of CDI. In this study, diagnostic performance of BD MAX Cdiff assay (Becton Dickinson, USA) was evaluated for the detection of *C. difficile* in 2502 fresh stool samples from hospitalized children and adult patients and the results were compared to toxigenic culture. The frequency of CDI in adults and pediatric patients were found as 3.3% and 6.2%, respectively. The sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), and negative predictive value (NPV) of BD MAX Cdiff assay were found as; 100%, 99.7%, 93%, and 100% for all patients; 100%, 99.7%, 96.2%, and 100% for pediatric patients; and 100%, 99.6%, 90.2%, and 100% for adult patients, respectively. We concluded that BD MAX Cdiff assay with high sensitivity, specificity, and PPV is useful for the diagnosis of CDI. With a high NPV of 100%, BD MAX Cdiff assay is also suitable for the exclusion of CDI.

© 2019 Published by Elsevier Ltd.

- Çocuk ve erişkinlerden 2502 taze dışkı örneği
- BD MAX Cdiff assay (Becton Dickinson, USA)
- CDI sıklığı erişkinlerde %3.3, çocuklarda %6.2
- Duyarlılık, özgüllük, pozitif (PPV) ve negatif prediktif değerler (NPV) %100, %99.7, %93, and %100

Figure 8. PCR ribotypes of CDI cases by country/administration*, nine EU/EEA countries or administrations, 2016–2017



Key: * UK devolved administrations are shown separately; **N=1 RT126 not shown for UK-Scotland

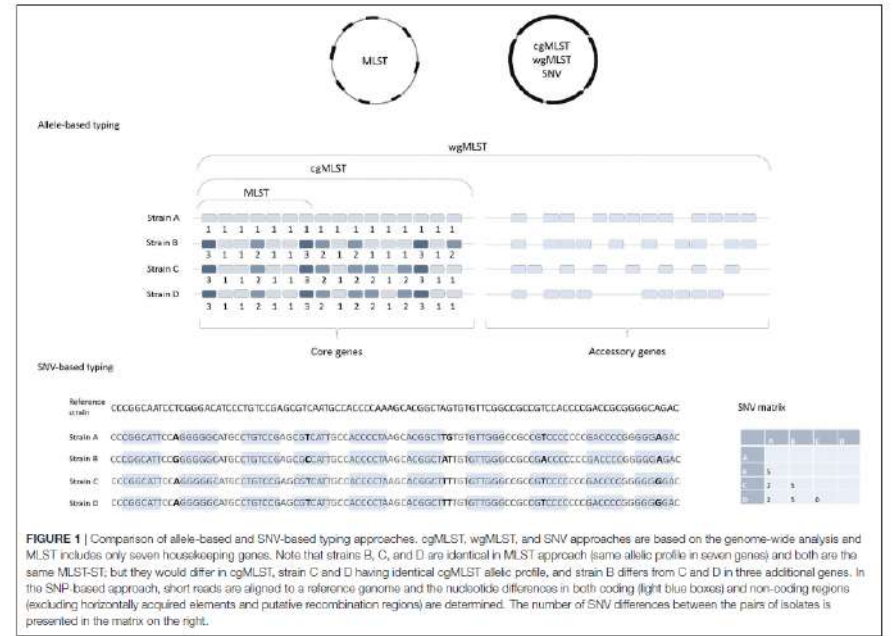
Yeni Nesil Dizileme (WGS)

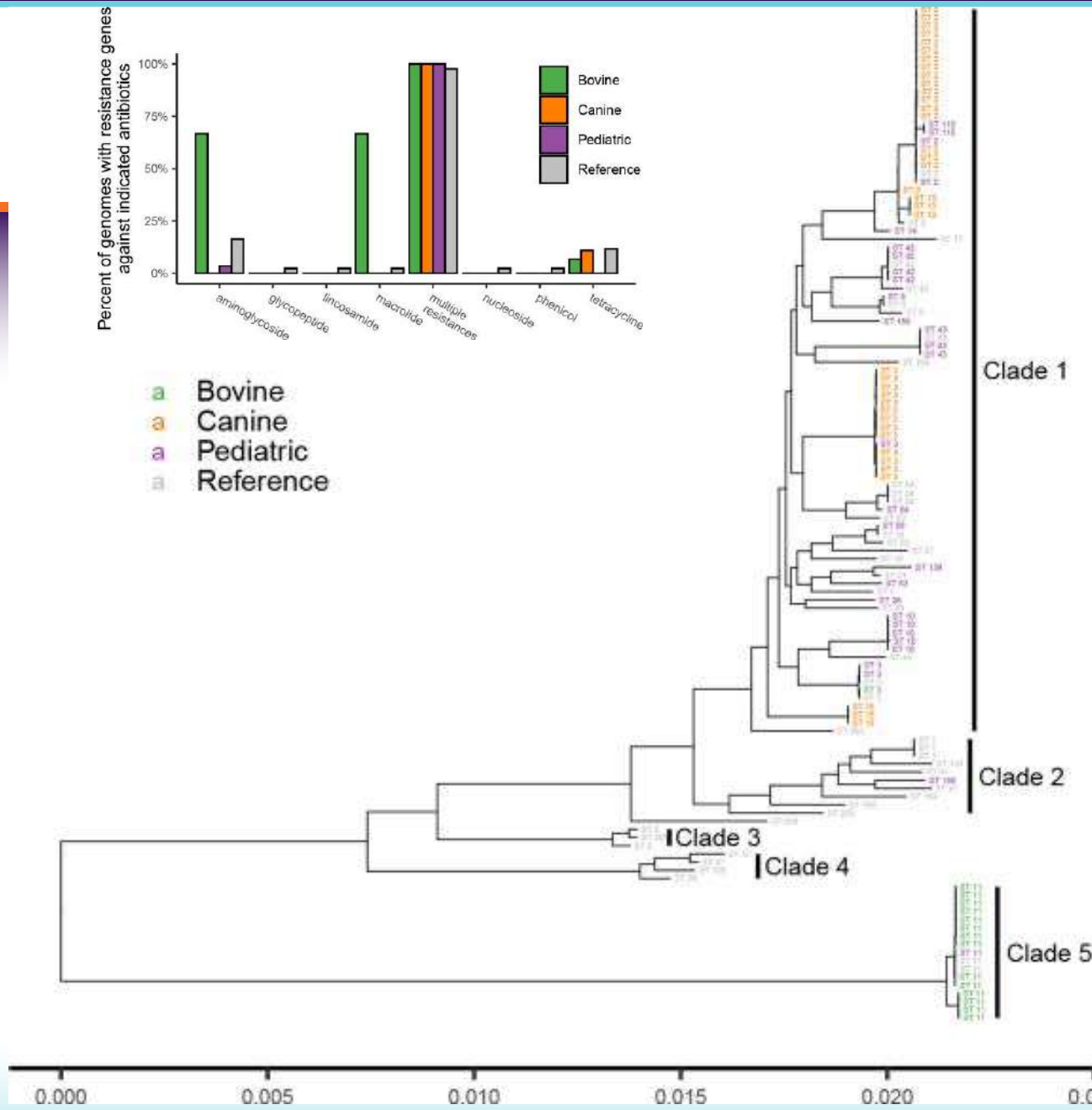
– Single nucleotide variant (SNV) analizi

- Çözünürlüğü yüksek
- Terminoloji ve yöntem standardizasyonu gerekli

– Genlerin karşılaştırılması (core genome/ whole genome MLST, cgMLST, wgMLST)

- Epidemiyolojik ve salgın araştırmaları
- Ticari yazılımlar (BioNumerics ve Ridom SeqSphere+) ve açık kaynak veritabanları (Enterobase) mevcut





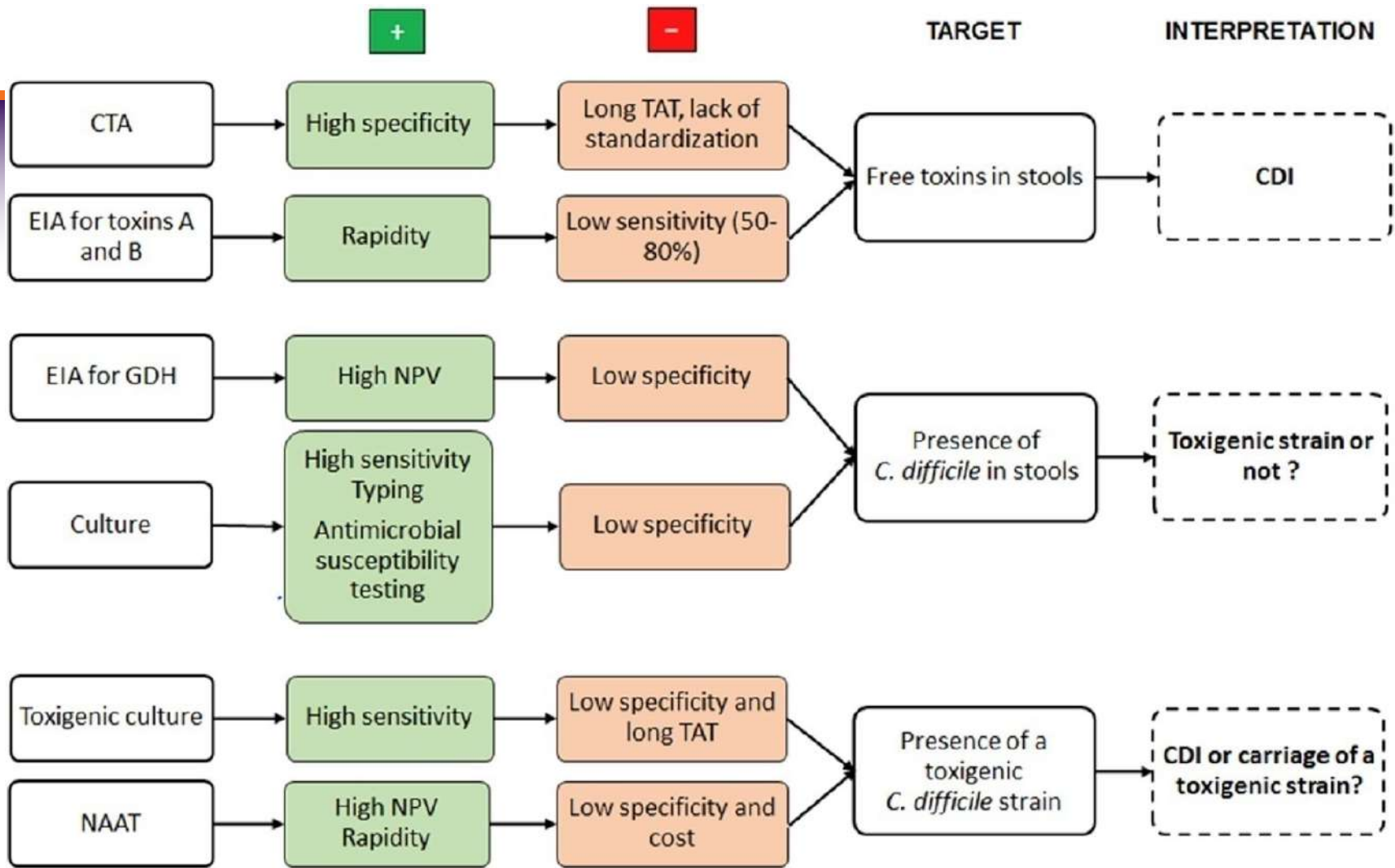
- Sınırlanmış coğrafik bölgelerde pediatrik hastalar, köpek ve sığırlardan izole edilen *C. difficile* suşları TGS ile karşılaştırılmış
- *C. difficile* suşları genellikle aynı konak türünde kümelenirken, bazen köpek ve pediatrik hasta suşlarının birlikte kümelenmesi, türler arası suşların sirkülasyonunu ve bulaş olasılığını düşündürmüştür
- Sığır izolatlarının en geniş çeşitlilikte antibiyotik direnç genlerine sahip olduğu saptanmıştır

C. difficile: Tiplendirme Yöntemleri

Table 6
C. difficile typing methods.

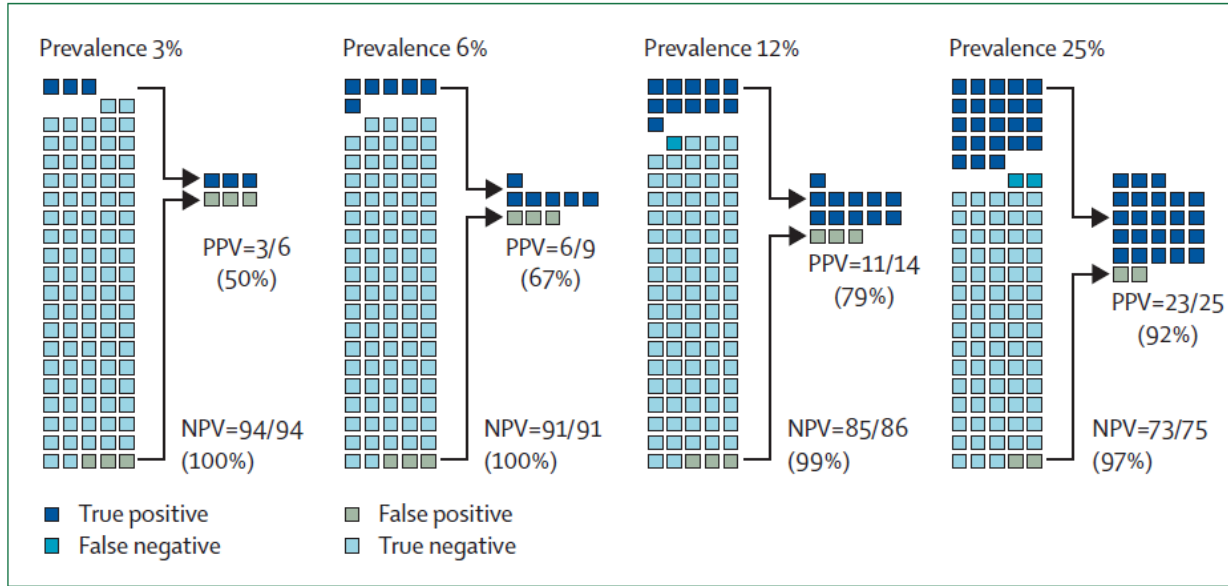
Method	Characteristics	Advantages	Disadvantages	Reference
Multiplex PCR	The PCR can target: <ul style="list-style-type: none"> • <i>tpi</i> housekeeping gene^a • an internal fragment of the toxin B (<i>tcdB</i> gene) • the 3' region, deleted or not, of the toxin A (<i>tcdA</i> gene) • binary toxin genes (<i>cdtA</i> and <i>cdtB</i>) • Other deletions in the Paloc genes 	Low cost	Process labour-intensive	[140,174]
Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)	The method uses infrequently-cutting restriction enzymes (like <i>SmaI</i> or <i>SacII</i>) to cut bacterial DNA at different restriction sites	Highly discriminatory	Process labour-intensive Difficulty of lysing spores Difficulty of interpreting results and the inter-laboratory exchange of the results Equipment and time required	[175,176]
Restriction enzyme analysis (REA)	The method uses frequently-cutting restriction enzymes (<i>HindIII</i>) to cut total cellular DNA at different restriction sites	Reproducible and highly discriminatory power Universally applicable	Difficulty of interpreting results and the inter-laboratory exchange of the results	[175]
PCR-ribotyping	A PCR-ribotype is defined as a group of strains that produce an identical band pattern based on the size variation of the 16S–23S rDNA intergenic spacer regions	Dominant typing method Inter-laboratory comparisons easy if standard nomenclature is available or use of Webribo database	Time intensive Equipment and material costs Technical training required Inter-laboratory comparisons difficult if standard nomenclature is not available	[178,182]
QIAxcel [®] system	For <i>C. difficile</i> ribotyping, the detection of <i>tcdC18</i> bp deletion, and toxin gene detection Based on an automated electrophoresis platform	Reduce the cost of hands-on time Allows analysis of up to 96 samples per run	Cost of the cartridges and equipment Limited sensitivity and discriminatory power (cannot distinguish between closely related PCR-ribotypes)	[184]
Serotyping - by slide agglutination - by polyacrylamide gel electrophoresis - by ELISA	The method distinguishes variations in <i>C. difficile</i> strains based on bacteria surface antigens	Good correlation between methods Reproducible, Rapid and reliable Inter-laboratory comparisons easy	Cross-agglutination caused by flagellar antigens (totally suppressed by ELISA)	[185,186]
Surface-layer protein A gene sequence typing (<i>slpAST</i>)	Sequencing of <i>slpA</i> gene, which encodes for a surface immuno protein Layer (S-layer)	Good discriminatory power It can be applied to direct typing (without culture) from DNA stool specimens	It has been showed that <i>C. difficile</i> genotype is no predictive of antigenic types	[187–189]
Repetitive sequence-based PCR typing (rep-PCR)	Specific repetitive PCR-primers complement the short repetitive sequences dispersed the bacterial genome The amplified DNA fragments provide a genomic fingerprint that can be employed for subspecies discrimination	Automated rep-PCR with a higher discriminatory power than traditional PCR-ribotyping	Requires visual interpretation and technical skills Inter-laboratory reproducibility has not been demonstrated	[190–192]
Random amplified polymorphic DNA (RAPD)	Random amplification of DNA segments by PCR reaction using a single primer of arbitrary nucleotide sequence	Inexpensive Does not require any specific knowledge of the DNA sequence	Must be combined with PCR-ribotyping to obtain higher discriminatory power	[193,194]
Amplified fragment length polymorphism (AFLP)	Genomic DNA is totally digested with two restriction enzymes. This step is followed by ligation of double-stranded oligonucleotide adaptors to the sticky ends of the restriction fragments followed by amplified by PCR	Low cost	Suboptimal reproducibility (variation in the precision of sizing of fragments) Limited application in <i>C. difficile</i> typing	[195]
Toxinotyping	Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism based method for differentiating strains according to changes in their toxin genes when compared to the reference VPI 10463 strain	Results of toxinotyping and PCR-ribotyping correlated well	Requires technical skills	[175]
Multilocus sequence typing (MLST)	The sequences of internal fragments of housekeeping genes (usually seven) are used to characterise the strains	Inter-laboratory comparisons easy	Time-consuming (several days) Costly and laborious technique Requires specific technical skills	[199,200]
Multilocus variable number tandem repeat analysis (MLVA)	The method utilizes the naturally occurring variation in the number of tandem repeated DNA sequences found in many different loci in the genome. The different lengths of variable number of tandem repeats (VNTR) regions are determined to distinguish among strains	High discriminatory power which allows tracking of outbreaks and determining phylogenetic relationships	Time-consuming Costly and laborious technique Requires specific technical skills Inter-laboratory comparisons difficult	[175,201]
Whole genome sequencing (WGS)	The method reveals the complete DNA of the bacterium at a single time	Provides the most comprehensive collection of an individual's genetic variation Increasingly low cost	Method still under development The large amount of data requires technical skills for further processing and analysis	[203]

^a Species species-interspecific fragment of the triose phosphate isomerase (*tpi*) housekeeping gene.



Tablo 6.5. *Clostridium difficile* tanı testlerinin özellikleri

Test	Duyarlılık	Özgüllük	Uygulama	Amaç	Kullanım
<i>C. difficile</i> kültürü	Düşük	Orta	Sınırlı	Dışkıdan <i>C.difficile</i> izolasyonu	Tanıda kullanılmaz Sadece toksijenik bakteri ile hastalık oluşumu
Toksijenik kültür	Yüksek	Yüksek	Sınırlı	Toksin üreten <i>C.difficile</i> varlığının ELISA veya hücre kültürü yöntemi ile saptanması	Referans yöntem Epidemiyolojik araç Tanıda sınırlı kullanım
<i>C. difficile</i> toksin nötralizasyon testi	Yüksek	Yüksek	Sınırlı	Dışkı veya izolat süpernatantlarında, hücre kültürü yöntemi ile <i>C. difficile</i> toksininin gösterilmesi ve özgül antitoksin ile nötralizasyonu	Referans yöntem Tanıda sınırlı kullanım
GDH	Yüksek	Düşük	Yaygın	Dışkı veya izolatta glutamat dehidrogenaz varlığının saptanması	Tanıda tarama testi olarak kullanım Doğrulanmalı
Toksin ELISA testi	Düşük	Yüksek	Yaygın	Dışkı veya izolatta toksin varlığının ELISA yöntemi ile saptanması	Toksin A+B'yi saptamalı Düşük duyarlılık
Nükleik asit amplifikasyon testleri	Yüksek	Yüksek	Yaygın	Dışkı veya izolatta nükleik asit amplifikasyon yöntemi ile <i>C.difficile</i> 'ye özgül toksin ve diğer gen bölgelerinin saptanması	Sadece akut hastalık evresinde kullanım Yalancı pozitiflik dikkate alınmalı



$$\text{PPV} = \frac{\text{TP}}{\text{TP} + \text{FP}}$$

- Dışkıda toksin A ve B prevalansı nisbeten düşükse (<%10), testin PPV'si teste ve test edilen örnek sayısına bağlı olarak kabul edilemez düzeyde düşük (~%50)
- Tanıyı iyileştirmek için iki aşamalı test algoritmaları önerilmekte
 - Önce duyarlılığı yüksek, hızlı bir test ile tarama
 - Ardından pozitif örneklerin referans yöntemle doğrulanması

C. difficile Test Algoritmaları

❑ *C. difficile* toksin ELISA tanıda tek başına yeterli değildir

❑ İki testin kombinasyonu:

❑ 1. aşama: GDH ELISA veya NAAT

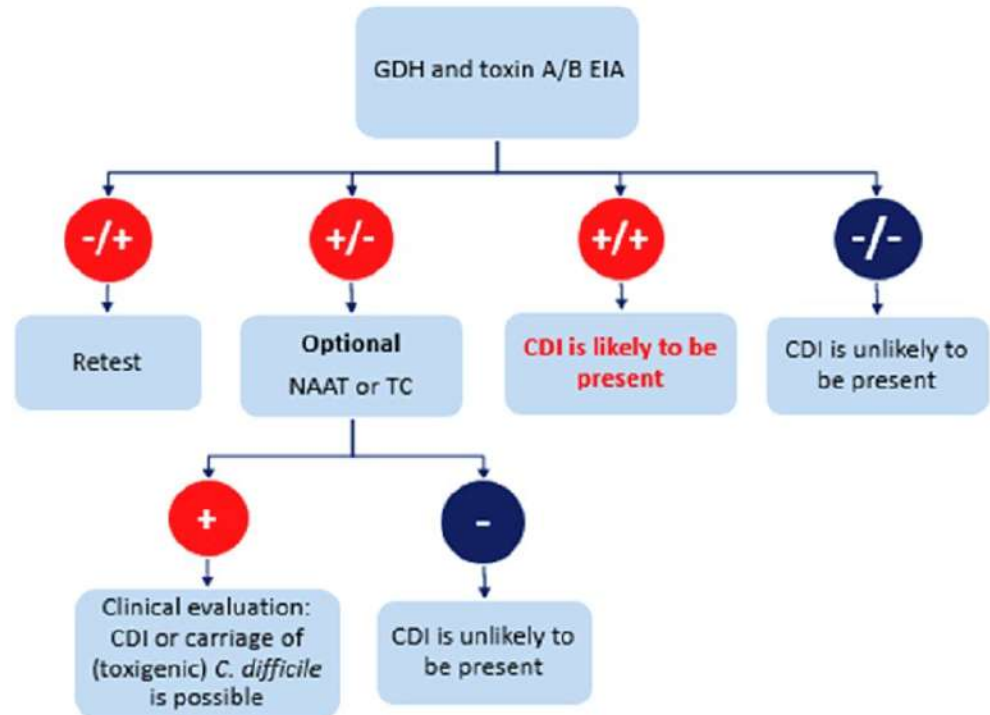
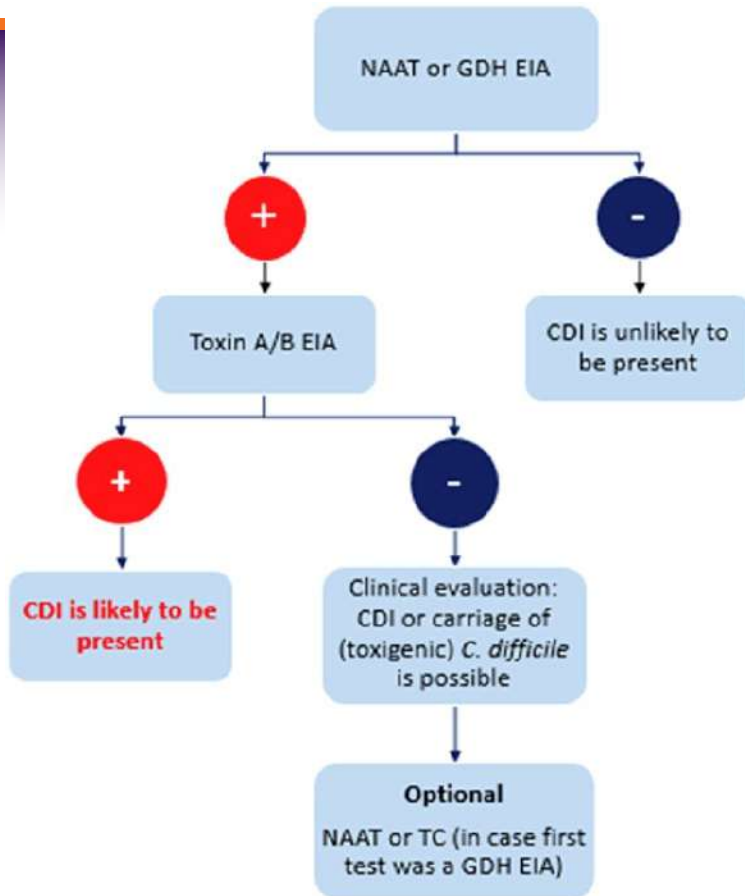


Pozitif



❑ 2. aşama: Toksin ELISA (veya Sitotoksin testi)

C. difficile Test Algoritmaları



Sonuçların Yorumlanması

GDH/ NAAT	Toksin ELISA	YORUM
Pozitif	Pozitif	<i>C. difficile</i> pozitif
Pozitif	Negatif	Potansiyel <i>C. difficile</i> taşıyıcısı
Negatif	Negatif	<i>C. difficile</i> mevcut değil (diğer patojenler)

Table 1.1. Recommended two-step algorithm by ESGCD and ESCMID

Categorization of CDI diagnostics	CDI diagnostic algorithm		
	First test	Second test	Optional third test
ESCMID-recommended	NAAT	Toxin A/B EIA	N/A
	GDH EIA	Toxin A/B EIA	NAAT or toxigenic culture
	GDH and Tox A/B EIA	NAAT or toxigenic culture*	N/A
Not recommended	All other algorithms		

N/A: not applicable

*In this testing strategy, NAAT or toxigenic culture is an optional second test (there is no third test option).

- Toxin A/B EIA: Enzyme immunoassays, including enzyme-linked immune sorbent assays (ELISA) that test for both toxins A and B.
- GDH EIA: Enzyme immunoassays, including enzyme-linked immune sorbent assays (ELISA), that test for glutamate dehydrogenase.
- GDH and Tox A/B EIA: Enzyme immunoassay that combines detection of both GDH and Tox A and B
- NAAT: Nucleic acid amplification tests.
- Toxigenic culture: Demonstration that a *C. difficile* culture is able to produce toxins *in vitro*, e.g. by cytotoxicity assays or Toxin A/B EIA from colonies. NAAT may be an alternative, but only demonstrates the presence of toxin genes.

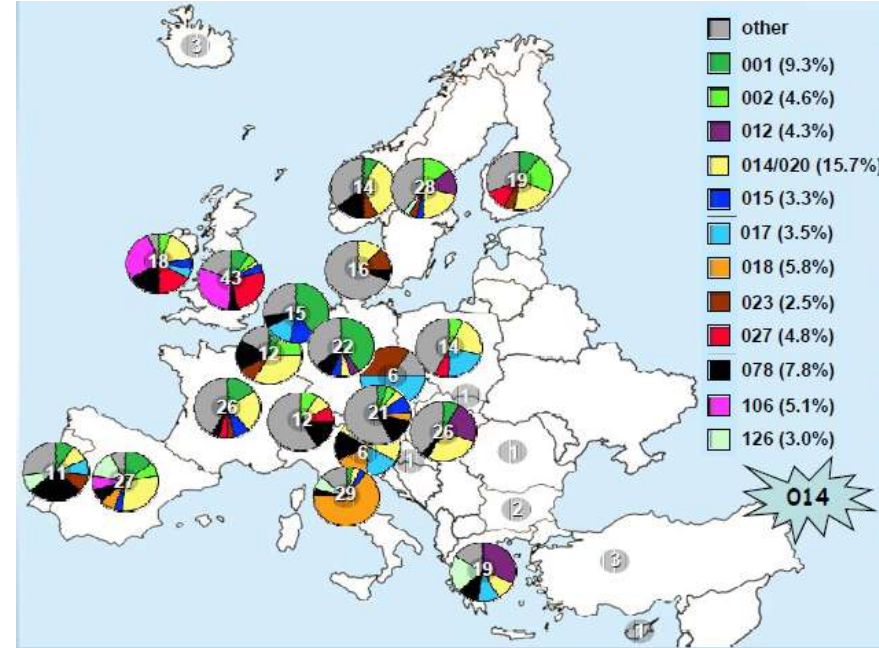
CDE Sürveyansının Amaçları

- Hastanelerdeki CDE insidansını belirlemek
- Standart yöntemler ve araçlar kullanarak hastalığı izlemek
- Hastalığın yan etki ve sonuçlarını değerlendirmek
- Antimikrobiyal duyarlılık, moleküler tiplendirme ve çeşitli toksin varlıklarının belirlenmesiyle bölgesel ve ulusal düzeyde *C. difficile* epidemiyolojisini tanımlamak
- Hipervirülan suşların varlığını araştırmak
- Doğruluğu yüksek tanı yöntemleri kullanılarak CDE tanısının konması

Avrupa *C. difficile* Enfeksiyon Sürveyi (ECDIS)

Türkiye verileri

- ❑ Türkiye'den 3 ilden 5 hastane
- ❑ 105 CDBİ şüpheli hastanın 5'inde *C. difficile* toksin pozitifliği
- ❑ CDİ insidansı 10 000 hasta gününde 0.1 (0-0.6)
- ❑ *C. difficile* suşları 014 ribotipine ait ve binary toksin negatif



ÖZET

- *C. difficile* nazokomiyal, antibiyotiğe bağlı ishallerin başta gelen nedeni ve alınan önlemlere rağmen insidansı yüksek
- Tedavinin etkinliği ve rekürrensin önlenmesi için hızlı tanı önemli
- Tanıda laboratuvar ve klinik bulgular birlikte deęerlendirilmeli
- Laboratuvar tanısı hızlı ve duyarlı olmalı
- İki-üç basamaklı algoritmalar
- Kültür pratik olmamakla birlikte epidemiyolojik çalıřmalar için gerekli
- Ayırdedici ve laboratuvarlar arası karşılaştırılabilir tiplendirme yöntemlerine ihtiyaç

TEŐEKKÜRLER



E-posta: belkis.levent@saglik.gov.tr