

İshalli Olgularda *Clostridium difficile* Toksin Pozitifliğinin Retrospektif Analizi

Ayşe Oğuz AYARCI *, Cüneyt ÖZAKIN **, Barbaros ORAL **, Ali Rıza İLBAŞI *,
Melda SINIRTAŞ **, Deniz SİĞİRLİ ***, Halis AKALIN *

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji *, Tıbbi Mikrobiyoloji **, Biyoistatistik ***,
Anabilim Dalları

ÖZET

Amaç: Antibiyotikle ilişkili ishal ve nozokomiyal ishal olgularında en sık etken *Clostridium difficile* olarak belirlenmektedir. Bu etkeni araştırarak çeşitli yöntemler kullanılmakla birlikte en sık tercih edilen yöntem ELISA ile toksin saptanması yöntemidir. Bu çalışmada Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'ne başvuran ve 2008-2011 yılları arasında antibiyotikle ilişkili ishal ön tanısı ile merkez mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen örneklerdeki *C. difficile* toksin pozitifliği ve yatan hasta sayısı/yatılan gün sayısı arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na 2008-2011 yılları arasında, ishalli 1829 olgulardan gönderilen toplam 2515 dışkı örneğinin *C. difficile* toksin sonuçları retrospektif olarak incelenmişti. Bu olgulardaki pozitiflik oranları yıl, erişkin/çocuk, klinik/poliklinik ve yatan hasta sayısı/yatılan gün sayısı olarak belirlenmiştir. Toksin A ve B'nin tespiti ELISA yöntemi (TOX A/B QUIK CHEK, Techlab, ABD) ile yapılmıştır.

Bulgular: Çalışmada 87 olguda (%4.8) toksin pozitif bulunmuş ve toksin pozitif olgu sayısının yıllara göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı saptanmıştır. Olguların %77'sinin yatan hastalar ait olduğu ve yatan hastalarda pozitifliğin %5.4 olduğu görülmüştür. *C. difficile*'ye bağlı ishal insidansı, 1000 hastanede yatış günü için 0.07 ve 1000 hasta kabulü için 0.5 olarak tespit edilmiştir.

Sonuç: Önemli bir nozokomiyal gastroenterit etkeni olan *C. difficile* sıklığı, yeterli enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınması ve uygun antibiyotik kullanım politikaları ile azaltılabilir. Bununla birlikte hastalara uygun tedavi için *C. difficile* tanısının doğru ve hızlı şekilde yapılması gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: *Clostridium difficile*, antibiyotikle ilişkili ishal, ELISA

SUMMARY

A Retrospective Analysis of *Clostridium difficile* Toxin Positivity in Patients with Diarrhea

Objective: *Clostridium difficile* is the most common cause of antibiotic-associated and nosocomial diarrhea. Although there are various methods for the investigation of the presence of this pathogen, the most preferred method for the detection of toxin is ELISA. In this study, it was aimed to investigate *C. difficile* toxin positivity and its relation with the number of patients and duration of stay in the hospital, in samples of patients with the initial diagnosis of antibiotic-associated diarrhea who were referred to the hospital of Uludağ University Faculty of Medicine between 2008-2011.

Materials and Methods: *C. difficile* toxin detected in a total of 2515 stool samples which were sent to the Microbiology Laboratory of Uludağ University Medical Faculty Hospitals between 2008 and 2011, were reviewed retrospectively. Stool samples were obtained from 1829 patients with diarrhea. These cases were reviewed in categories of age groups, adult/child, in-patient/outpatient and the relation of the number of toxin positive cases and toxin positivity with number of patients and duration of stay at the hospital were investigated. *C. difficile* toxin A/B was detected by ELISA (TOX A/B QUIK CHEK, Techlab, USA).

Results: *C. difficile* toxin positivity was found in 87 (4.8%) patients and it was detected that the number of *C. difficile* toxin-positive cases significantly decreased over years. The incidence of diarrhea due to *C. difficile*, was 0.07 for 1000-day stay at the hospital and 0.5 for 1000 patient-admitted to the hospital.

Conclusion: In order to decrease the risk of infection due to *C. difficile*, which is an important agent of nosocomial gastroenteritis, adequate infection control measures and appropriate antibiotic use policies should be implemented. Appropriate treatment of the patients requires accurate and prompt diagnosis of *C. difficile* toxin in suspected cases.

Key words: *Clostridium difficile*, antibiotic-associated diarrhoea, ELISA

Alındığı tarih: 11.07.2011

Kabul tarihi: 25.12.2011

Yazışma adresi: Ayşe Oğuz Ayarçı, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 16059 Görükle, Bursa

e-posta: dr.aoguz75@hotmail.com

GİRİŞ

Klinik olarak asemptomatik taşıyıcılıktan ölümlerle sonlanabilen psödomembranöz enterokolit tablolarına kadar çok geniş bir yelpazesi olan *Clostridium difficile* antibiyotikle ilişkili ve nozokomiyal ishallerde en sık rastlanan etken olarak karşımıza çıkmaktadır⁽¹⁻³⁾. Anaerop, sporlu, gram pozitif bir bakteri olan *C. difficile* suşlarının antibiyotikle ilişkili ishale neden oldukları ilk kez 1977 yılında gösterilmiştir⁽⁴⁾. *C. difficile* enfeksiyonlarının yakından takip edildiği ülkelerde, 1990'lı yıllarda bu enfeksiyonların insidansında belirgin bir artışın başladığı, 2006 ve 2007 yıllarında ise artış oranının en üst seviyeye ulaştığı belirlenmiştir⁽⁵⁾. Bazı Avrupa ve Kuzey Amerika ülkelerinde salgınlara yol açan ve ağır seyirli enfeksiyonlara neden olan endemik suşlar tanımlanmış; özellikle virülansı yüksek *C. difficile* 027/NAP1/BI suşunun diğer bölgelere de yayıldığı ve tüm dünya ülkeleri için tehdit oluşturduğu bildirilmiştir⁽⁶⁾.

C. difficile enfeksiyonlarında klinik tablo salınan toksinlerle oluşmaktadır. Bu bakterinin toksin A ve B olmak üzere iki tip toksini bulunmaktadır. Toksin A klinik bulguları oluşturan değişikliklerden sorumlu bir enterotoksindir; toksin B ise güçlü bir sitotoksindir. Toksinlerin hücre membranındaki reseptörlere bağlanması toksik etkiyi oluşturur. Her iki toksin mukozada enflamasyona yol açar; nötrofil, monosit ve dökülen enterositleri içeren proteinden zengin bir eksüda salınımına neden olur. Ayrıca her iki toksin monositlerden sitokin salınımından da sorumludur. *C. difficile* suşlarının yaklaşık %25'i toksin üretmektedir ve dolayısıyla bunlar ishal ve kolite neden olmaz^(2,3,7-9).

C. difficile enfeksiyonlarının tanısında dışkı, endoskopi ve biyopsi örnekleri kullanılabilir. Örneklerden kültür ile bakteriyi izole etmek mümkündür, ancak esas olan toksin belirlenmesidir^(3,10,11). Toksin belirlenmesinde en duyarlı ve özgül yol hücre kültürü ile sitotoksinite deneyleridir. Ancak bu deneyler zor, zaman alıcı ve geç sonuç verir. Son yıllarda, hasta örneklerinde toksin belirlemeye yönelik ELISA ve lateks aglütinasyon testleri hızlı ve kolay olmaları nedeniyle sık kullanılmaktadır^(9,12,13).

Bu çalışmada, 2008- 2011 yılları arasında hastanemiz merkez mikrobiyoloji laboratuvarına, ishallerden

olgulardan gönderilen dışkı örneklerindeki *C. difficile* toksin pozitifliği ve yatan hasta sayısı/yatılan gün sayısı arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na 2008-2011 yılları arasında ishallerden gönderilen toplam 2515 dışkı örneğinde *C. difficile* toksin varlığı retrospektif olarak incelendi. Dışkı örnekleri 1829 olgudan geldi. Bu olgulardaki pozitiflikler; yıl, erişkin/çocuk, klinik/poliklinik ve yatan hasta sayısı/yatılan gün sayısı olarak incelendi. Merkez mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen dışkı örnekleri öncelikle makroskopik olarak incelendi ve materyalin uygunluğu değerlendirildi. Yalnızca sulu dışkıda toksin çalışılmış ve makroskopik olarak uygun olmayan örnekler reddedilmişti. Laboratuvarımızda toksin A ve B'nin tespiti için ELISA yöntemi (TOX A/B QUIK CHEK, Techlab, ABD) kullanıldı. Test üretici firmanın önerisi doğrultusunda çalışıldı. ELISA sonuçları, üretici firmanın kılavuzunda belirtilen sınır değeri (cut-off) kullanılarak, negatif, sınırdan ve pozitif olmak üzere üç kategoride raporlandı. İshallerden gelen erişkin/çocuk olarak değerlendirilirken 18 yaş altı çocuk, 18 yaş ve üstü erişkin olarak kategorize edildi. Yıllara göre pozitiflik oranını değerlendirmek için χ^2 trend analizi kullanıldı ve $p<0.05$ değerleri anlamlı kabul edildi. Üç olgu, gönderildiği bölüm tespit edilemediği için klinik/poliklinik bazında değerlendirmeye alınmadı. Klinik/poliklinik bazında değerlendirme 1826 olguda yapıldı.

BULGULAR

Çalışma döneminde merkez mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen dışkı örneklerinin 2515'i (%87.4) çalışmaya uygun bulunmuştur. Tablo 1'de yıllara göre gelen örnek ve çalışılan örnek sayıları görülmektedir. Çalışmaya uygun bulunan örnekler 1829 olguya ait olup, 87 olguda (%4.8) pozitiflik saptanmıştır. Yıllara göre pozitiflik oranlarında anlamlı olarak azalma olmuştur ($p=0.031$). Erişkin/çocuk olarak bakıldığında, esas anlamlı azalmanın erişkinlerde olduğu ($p<0.001$), çocuklarda anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür ($p=0.103$) (Tablo 1).

Tablo 1. Gelen ve çalışılan örnek sayısının ve olguların yıllara göre dağılımı.

Yıl	Gelen örnek sayısı	Çalışılan örnek sayısı (%)	Olgu sayısı			Pozitif olgu sayısı (%)		
			E*	Ç*	Toplam	E*	Ç*	Toplam
2008	293	278 (94.9)	169	34	203	35	1	36 (17.7)
2009	531	515 (97)	278	98	376	11	10	21 (5.6)
2010	843	664 (78.8)	368	108	476	11	3	14 (2.9)
2011	1210	1058 (87.4)	535	239	774	8	8	16 (2.1)
Toplam	2877	2515 (87.4)	1350	479	1829	65	22	87 (4.8)

*E: Erişkin, Ç: Çocuk

Tablo 2. Yatan hastalardaki pozitifliklerin kliniklere ve yoğun bakımlara göre dağılımı.

Bölümler	Pozitif			Pozitif			Pozitif			Pozitif		
	2008	n	%	2009	n	%	2010	n	%	2011	n	%
Erişkin enfeksiyon	31	8	25.8	26	1	3.8	14	1	7.1	27	1	3.7
Erişkin hematoloji	24	5	20.8	44	0		42	1	2.4	62	2	3.2
Erişkin onkoloji	18	5	27.8	23	1	4.3	35	1	2.9	61	0	
Erişkin gastroenteroloji	13	4	30.8	40	1	2.5	21	0		36	1	2.8
Erişkin diğer	34	1	2.9	63	3		93	4	4.3	113	1	0.9
Erişkin yoğun bakım	17	8	47.1	14	2		23	1	4.3	38	2	5.3
Erişkin toplam	137	31	22.6	210	8	3.8	228	8	3.5	337	7	2.1
Çocuk	35	1	2.9	98	10	10.2	101	1	1	242	7	2.9
Çocuk yoğun bakım							7	2	28.6	11	1	9.1
Çocuk toplam	35	1	2.9	98	10	10.2	108	3	2.8	253	8	3.2
Genel toplam	172	32	18.6	308	18	5.8	336	11	3.3	590	15	2.5

Tablo 3. Olguların polikliniklere göre dağılımı.

POLİKLİNİKLER	Pozitif			Pozitif			Pozitif			Pozitif		
	2008	n	%	2009	n	%	2010	n	%	2011	n	%
Hematoloji		8					3	0		6	0	
Enfeksiyon	5	0		15	0		39	0		37	1	2.7
Gastroenteroloji	1	0		4	0		47	0		112	0	
Nefroloji							4	1		6	0	
Onkoloji							9	0	25	3	0	
Romatoloji							4	0		1	0	
Genel Dahiliye	12	2	16.7	10	0		10	0		13	0	
TOPLAM	18	2	11.1	29	0		116	1	0.9	178	1	0.6

İstek yapan bölümün belirlendiği 1826 olgunun 1406'sı (%77) yatan hastalara ait olup, erişkin/çocuk ve klinik/yoğun bakım olarak dağılımı Tablo 2'de görülmektedir. Yatan hastaların %5.4'ünde pozitiflik saptandı. Tabloda da görüldüğü gibi en yüksek oran 2008 yılında erişkin yoğun bakımlarında tespit edilmiştir. Yatan hastalardaki olgu sayısında yıllar içerisinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu görülmüştür (p<0.001).

İstek yapan bölümün belirlendiği 1826 olgunun 341'i (%18.7) poliklinik hastalarına ait bulundu. Poliklinik hastalarının %1.2'sinde pozitiflik saptandı. Poliklinik hastaları arasında çocuk yaş grubuna rastlanmadı. Poliklinik hastalarında da, pozitiflik saptanan olgu sayısında yıllar içerisinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalmanın olduğu görüldü (p=0.01) (Tablo 3).

Tablo 4. Pozitif olguların yatan hasta/yatılan gün sayısı olarak dağılımı*.

Yıl	Yatan hasta sayısı	Pozitif olgu sayısı	Olgu pozitifliği/ 1000 hasta sayısı	Yatılan gün sayısı	Olgu pozitifliği/ 1000 hasta yatış günü
2008	32.005	32	1	216.289	0.1
2009	37.447	18	0.5	250.792	0.07
2010	38.055	11	0.3	274.672	0.04
2011	39.738	15	0.4	280.457	0.05
Toplam	147.245	76	0.5	1.022.210	0.07

$p < 0.001$ (χ^2 trend analizi)

Olguların 79 (%4.3)'u acil servise başvuran hastalardı. Bu hasta grubunda da pozitiflik oranının yıllar içinde anlamlı olarak azaldığı saptandı ($p < 0.001$).

Yatan hastalardaki pozitif olgular yatan hasta sayısı/yatılan gün sayısı olarak değerlendirildiğinde; 1000 hasta kabulü için 0.5 ve 1000 hastanede yatış günü için ise 0.07 oranları bulundu ve yıllar için anlamlı azalma olduğu saptandı (Tablo 4) ($p < 0.001$).

TARTIŞMA

C. difficile enfeksiyonlarının morbidite ve mortalitesinde ülkelere ve merkezlere göre değişiklik görülmele beraber, son dönemlerde belirgin bir artış söz konusudur. Mikroorganizmanın virülansındaki farklılıklar ve uygulanan antibiyotik tedavisindeki değişiklikler buna neden olarak gösterilebilir (14-16). Özellikle 2000'li yıllardan sonra dünyanın çeşitli ülkelerinden virülansı yüksek *C. difficile* O27/NAP1/BI suşu ile mortalite oranı yüksek salgınlar bildirilmiştir (17).

Yıllar içinde *C. difficile*'de toksin üretimini araştıran farklı yöntemler geliştirilmiş; önceleri yalnızca toksin A'yı, daha sonraları toksin A ve B'yi birlikte saptayan kitler hazırlanmış ve referans olarak kabul edilen hücre kültürü sitotoksitesi yöntemi ile karşılaştırmalar yapılmıştır. Bu yöntemlerin duyarlılıkları %66-93, özgüllükleri ise %89-99 arasında bildirilmektedir (18). Üretici firma tarafından laboratuvarımızda kullanılan testin duyarlılığı %90.2 (%95 CI, 84.1-94.2), özgüllüğü ise %99.7 (%95 CI, 98.8-99.9) olarak belirtilmiştir.

C. difficile'ye bağlı enfeksiyonların sıklığının yapılan çeşitli çalışmalarda, çalışılan hasta grubunun özellikleri ve kurumların farklılıkları nedeniyle

değiştiği gözlenmiştir. Çalışmamızı kapsayan 2008-2011 yılları arasında 87 hastada (%4.8) pozitiflik saptanmıştır. Yine çalışmamızda *C. difficile*'ye bağlı ishal (CDBİ) 1000 hastanede yatış günü için 0.07 iken, 1000 hasta kabulü için, 0.5 olarak bulunmuştur. Bu bulgular daha önce hastanemizde yapılan ve 2004-2005 yıllarını kapsayan çalışmanın bulgularından daha düşüktür (19). Önceki çalışmada, hastane kaynaklı ishali 44 olgunun 19'unda (%43) *C. difficile* toksin pozitifliği saptanmış ve CDBİ insidansı 1000 hastanede yatış günü için 0.6 ve 1000 hasta kabulü için beş olarak tespit edilmiştir. Bütün oranlar yaklaşık 10 kat daha yüksektir. Bu çalışmada da en yüksek değerler 2008 yılında saptanmış olup, yıllar içinde azalma olmuştur. İki çalışma arasındaki fark hastanemizdeki her geçen gün gittikçe düzelen antibiyotik kullanımı ve enfeksiyon kontrol önlemlerinin etkin bir şekilde uygulanması olabilir. Ayrıca Tablo 1'de de görüldüğü gibi yıllara göre laboratuvara gönderilen örnek sayısı artmıştır. Klinik istemler yeterince özenli yapılmaz ise pozitif olgu sayılarının düşmesi artmış örnek sayısı ile de açıklanabilir. Ayrıca önceki çalışmanın prospektif ve nozokomial diyaresi olan erişkin grupta olması; bu çalışmanın ise retrospektif tüm hastaneyi kapsayan bir çalışma olması aradaki farkı açıklayabilen bir başka nedendir.

Tunçcan ve ark. (20) yapmış olduğu bir çalışmada; 2003-2004 yıllarında hastanede yatan ve antibiyotik kullanımı sonrasında ishal gelişen nötropenik olan ve olmayan 149 hastada %22.8 oranında *C. difficile* toksin A/B pozitifliği saptanmıştır. Turan ve ark.'nın (21) yapmış olduğu bir başka çalışmada; 2006-2007 yıllarında 72 CDBİ şüpheli hasta örneğinden 12'sinde (%16.7) ELISA ve toksijenik kültür yöntemleriyle toksin pozitifliği saptanmıştır.

Oranlar arasındaki farklılıklar; kullanılan kitlerin farklılığına, örneklerin saklanma ve incelenmesindeki yöntem farklılıklarına, hasta popülasyonlarının farklılığına, hastanelerin antibiyotik kullanım politikalarının farklılığına, hastaların hastanede yatış süreleri ve altta yatan hastalık varlığına ve hastane enfeksiyon kontrol önlemleri arasındaki farklılıkların enfeksiyon sıklığına etkisiyle açıklanabilir.

Son yıllarda pediatri servislerinde de *C. difficile* enfeksiyonu görülme sıklığında artış olduğu bildirilmekte ve bu hasta grubunun da yakından izlenmesi önerilmektedir⁽²⁵⁾. Çalışmamızda da pediatik yaşlarda toksin pozitifliği düşük çıkmış, ancak yıllara göre anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Bu durumda çocuk yaş grubunda da bu enfeksiyonun olabileceği unutulmamalıdır.

Yapılan çalışmalarda; hastane ile ilişkisi olmayan ve bilinen risk faktörü bulunmayan sağlıklı kişilerde de CDBİ olgularında artış bildirilmektedir. Bauer ve ark.⁽²⁶⁾ yapmış olduğu bir çalışmada; 2423 toplum kaynaklı CDBİ şüpheli dışkı örneğinin 37'sinde (%1.5) toksin pozitifliği tespit edilmiştir. Çalışmamızda polikliniğe ve acile başvuran olgularda daha düşük oranlarda olsa da pozitiflikler olmuş, ancak pozitif olgu sayılarında yıllara göre anlamlı bir fark tespit edilmemişti. Altındiş ve ark.⁽²⁷⁾ yapmış olduğu bir çalışmada poliklinik hastalarının %15.5'inde ve servis hastalarının ise %17.1'inde *C. difficile* toksin pozitifliği saptanmıştır ve arada çok az farkın olduğunu vurgulanmıştır.

C. difficile'ye bağlı ishalde önemli risk faktörleri arasında antibiyotik kullanımı, hastanede yatış süresi ve altta yatan hastalık varlığı sayılabilir. Yapılan çalışmalarda; CDBİ insidansı, dört haftanın üzerinde hastanede yatış öyküsü, altta yatan hastalık ve kullanılan antibiyotik türüne bağlı olarak arttığı saptanmıştır^(28,29).

Sonuç olarak, önemli bir nozokomiyal gastroenterit etkeni olan *C. difficile* sıklığının azaltılması, yeterli enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınması ve uygun antibiyotik kullanım politikaları ile sağlanabilir. Bununla birlikte hastalara uygun tedavi için *C. difficile* tanısının doğru ve hızlı şekilde yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. **Bartlett JG.** Management of *Clostridium difficile* infection and other antibiotic-associated diarrhoeas. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1996; 8:1054-61. <http://dx.doi.org/10.1097/00042737-199611000-00005> PMID:8944365
2. **Bartlett JG.** *Clostridium difficile*-associated diarrhea and colitis. Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR eds. *Infectious Diseases*. 3rd ed. Philadelphia: Saunders Company, 2004: 670-4.
3. **Fekety R.** Guidelines for the diagnosis and management of *Clostridium difficile*-associated diarrhea and colitis. *Am J Gastroenterol* 1997; 92:739-50. PMID:9149180
4. **Bartlett JG.** Historical perspectives on studies of *Clostridium difficile* and *C. difficile* infection. *Clin Infect Dis* 2008; 46(suppl 1):S4-11. <http://dx.doi.org/10.1086/521865> PMID:18177220
5. **Pearson A.** Historical and changing epidemiology of health-care-associated infections. *J Hosp Infect* 2009; 73:296-304. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhin.2009.08.016> PMID:19925942
6. **O'Connor JR, Johnson S, Gerding DN.** *Clostridium difficile* infection caused by the epidemic BI/NAP1/027 strain. *Gastroenterology* 2009; 136:1913-24. <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2009.02.073> PMID:19457419
7. **Bartlett JG.** Antibiotic-associated diarrhea. *N Engl J Med* 2002; 346:334-9. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMcp011603> PMID:11821511
8. **Savidge TC, Pan WH, Newman P, O'Brien M, Anton PM, Pothoulakis C.** *Clostridium difficile* toxin B is an inflammatory enterotoxin in human intestine. *Gastroenterology* 2003; 125:413-20. [http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085\(03\)00902-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085(03)00902-8)
9. **Thomas C, Stevenson M, Riley TV.** Antibiotics and hospital-acquired *Clostridium difficile*-associated diarrhoea: a systematic review. *J Antimicrob Chemother* 2003; 51:1339-50. <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkg254> PMID:12746372
10. **Johnson EA, Summanen P, Finegold SM.** *Clostridium*. In: Murray PR, Baron EJ, Tenover JC, Tenover FC eds. *Manual of Clinical Microbiology*. 9th ed. Washington DC: ASM Press, 2007: 889-910.
11. **Brazier JS.** The diagnosis of *Clostridium difficile*-associated disease. *J Antimicrob Chemother* 1998; 41(suppl C):S29-40. http://dx.doi.org/10.1093/jac/41.suppl_3.29
12. **Delmee M.** Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* disease. *Clin Microbiol Infect* 2001; 7:411-6. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1198-743x.2001.00294.x> PMID:11591203
13. **Thielman NM.** Antibiotic-associated colitis. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 6th ed. Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone, 2005:1249-63.
14. **McFarland LV, Stamm WE.** Review of *Clostridium difficile* associated diseases. *Am J Infect Control* 1986; 14:99-103. [http://dx.doi.org/10.1016/0196-6553\(86\)90018-0](http://dx.doi.org/10.1016/0196-6553(86)90018-0)
15. **Carter GP, Rood JI, Lyras D.** The role of toxin A and toxin B in *Clostridium difficile*-associated disease: past and present perspectives. *Gut Microbes* 2010; 1:58-64. <http://dx.doi.org/10.4161/gmic.1.1.10768> PMID:20664812 PMCid:2906822
16. **Redelings MD, Sorvillo F, Mascola L.** Increase in *Clostridium difficile*-related mortality rates, United States, 1999-2004. *Emerg Infect Dis* 2007; 13:1417-19. PMID:18252127 PMCid:2857309
17. **Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P.** ESCMID Study Group for *Clostridium difficile*, EU Member States, European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of *Clostridium difficile*-associated disease in North America and Europe. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12(suppl 6):S2-18. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01580.x> PMID:16965399
18. **Alfa MJ, Swan B, VanDekerkhove B, Pang P, Harding GK.** The diagnosis of *Clostridium difficile*-associated diarrhea:

- comparison of Triage *C. difficile* panel, EIA for Tox A/B and cytotoxin assays. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002; 43:257-63.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0732-8893\(02\)00413-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0732-8893(02)00413-3)
19. **Ergen E.K, Akahn H, Yılmaz E, et al.** Nosocomial diarrhea and *Clostridium difficile* associated diarrhea in a Turkish University Hospital. *Med Mal Infect* 2009; 39:382-7.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.medmal.2009.02.001>
PMid:19269761
 20. **Tunçcan OG, Ulutan F, Karakuş R.** The frequency of *Clostridium difficile* toxin in neutropenic and non-neutropenic patients with antibiotic-associated diarrhea and analysis of the risk factors. *Mikrobiyol Bul* 2008; 42:573-83.
PMid:19149078
 21. **Turan M, Levent B, Kayali R, Guldemir D, Esen B.** Evaluation of patients with *Clostridium difficile* associated diarrhea. 2nd International *C. difficile* symposium. 6-9 Haziran 2007, Maribor: Slovenia. Sayfa 52.
 22. **Karaer P, Yarkan F, Alhan E, Köksal F.** İshalli ve asemptomatik kişilerin dışkılarında *Clostridium difficile* toksinleri ile diğer enterik patojenlerin insidansı. 5. Ulusal İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi Kitabı, 4-6 Eylül 1995, İstanbul: Türkiye. Sayfa 101.
 23. **Ercis S, Ergin A, Hasçelik G.** Six years evaluation of *Clostridium difficile* associated diarrhea. *Mikrobiyol Bul* 2004; 38:45-50.
PMid:15293901
 24. **Boral Ö.** *C. difficile* infeksiyonu ön tanımlı hastaların dışkı örneklerinde toksin A ve B'nin belirlenme sıklığı. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2002; 32:220-4.
 25. **Kim J, Smathers SA, Prasad P, Leckerman KH, Coffin S, Zaoutis T.** Epidemiological features of *Clostridium difficile*-associated disease among inpatients at children's hospitals in the United States, 2001-2006. *Pediatrics* 2008; 122:1266-70.
<http://dx.doi.org/10.1542/peds.2008-0469>
PMid:19047244
 26. **Bauer MP, Veenendaal D, Verhoef L, Bloembergen P, Van Dissel JT, Kuijper EJ.** Clinical and microbiological characteristics of community-onset *Clostridium difficile* infection in The Netherlands. *Clin Microbiol Infect* 2009; 15:1087-92.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.02853.x>
PMid:19624512
 27. **Altındış M, Usluer S, Çiftçi H, Tunç N, Çetinkaya Z, Aktepe OC.** Investigation of the presence of *Clostridium difficile* in antibiotic associated diarrhea patients by culture and toxin detection methods. *Mikrobiyol Bul* 2007; 41:29-37.
PMid:17427550
 28. **Bignardi GE.** Risk factors of *Clostridium difficile* infection. *J Hospital Infect* 1998; 40:1-15.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0195-6701\(98\)90019-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0195-6701(98)90019-6)
 29. **Gorschlüter M, Glasmacher A, Hahn C, et al.** *Clostridium difficile* infection in patients with neutropenia. *Clin Infect Dis* 2001; 33:786-91.
<http://dx.doi.org/10.1086/322616>
PMid:11512083