

Clostridium difficile 감염증 진단을 위한 검사법의 비교 평가

Comparison and Evaluation of Diagnostic Assays for *Clostridium difficile* Infection

김경보 · 김도훈 · 이원목 · 하정숙 · 류남희 · 전동석 · 김재룡

Kyoung-Bo Kim, M.D., Do Hoon Kim, M.D., Wonmok Lee, M.D., Jung-Sook Ha, M.D., Nam-Hee Ryoo, M.D., Dong-Seok Jeon, M.D., Jae-Ryong Kim, M.D.

계명대학교 의과대학 진단검사의학교실

Departments of Laboratory Medicine, Keimyung University School of Medicine, Daegu, Korea

Background: *Clostridium difficile* is a leading causative microorganism of pseudomembranous colitis (PMC) and antibiotic-associated diarrhea. In patients who have a history of antibiotic use and diarrhea, the presence of the *C. difficile* toxin should be confirmed to diagnose *C. difficile* infection (CDI). In this study, the results of three assays for CDI, which were performed on 1,363 clinical stool samples at a tertiary hospital, were analyzed to evaluate the performance and usefulness of these assays for diagnosis of CDI.

Methods: The results of the VIDAS *C. difficile* Toxin A&B Immunoassay (bioMérieux SA, France), Xpert *C. difficile* Real-Time PCR Assay (Cepheid, USA), and ChromID *C. difficile* Agar (bioMérieux SA, France) culture were analyzed retrospectively. Cases were defined as CDI according to the positive Xpert assay or the positive VIDAS assay and/or culture in the presence of PMC findings after radiological imaging or endoscopic procedures.

Results: A total of 1,027 samples (75.8%) tested negative in all three assays, 101 samples (7.4%) tested positive in all three assays, and overall agreement among them was 82.7%. In this study, 291 cases (21.3%) were diagnosed as CDI. Sensitivity and specificity of the VIDAS assay were 38.8% and 99.3%, and those of ChromID culture were 71.5% and 96.5%, respectively. The Xpert assay showed good sensitivity (98.6%, 287/291), whereas the VIDAS assay and ChromID culture showed low sensitivities.

Conclusions: These results suggest that rapid molecular diagnostic assays, such as the Xpert assay, are promising candidates for an initial diagnostic test for CDI.

Key Words: *Clostridium difficile*, Molecular diagnostic testing, Diagnostic test, Xpert

서론

*Clostridium difficile*은 무산소성 그람 양성 막대균으로 항균제 사용 후 발생하는 위막성 대장염(pseudomembranous colitis, PMC)의 주요 원인균이며, 원내에서 발생하는 항생제 관련 설사의 원인균 중 하나이다[1]. *C. difficile* 감염증(*C. difficile* infection, CDI)은 *C. difficile*이 생성하는 독소 A (enterotoxin)와 독소 B (cytotoxin)

중 주로 독소 B에 의해 발생하며, 증상은 단순 설사부터 패혈증까지 다양하게 나타날 수 있다.

CDI의 진단을 위해서는 설사 혹은 장폐색 증상을 보이는 환자를 대상으로 검사실에서 독소를 생성하는 *C. difficile*의 존재를 증명하거나, 영상학적 검사 혹은 내시경 검사를 통해 PMC의 특징적인 소견을 확인해야 한다[2]. 이 중 실험실적 검사법으로는 독소를 검출하는 면역검사법과 선택배지를 이용한 *C. difficile* 배양법이 예전부터 이용되었으며, 독소배양법(toxigenic culture)이 표준검사법으로 사용되어 왔다[3-7]. 최근에는 독소 생성 유전자를 직접 검출하는 분자진단검사법이 상용화되어 진단에 이용되고 있다[3-5, 7-10]. 기존 연구들에 따르면 *C. difficile*의 공통 항원인 글루탐산탈수소효소(glutamate dehydrogenase, GDH)를 검출하는 면역학적 검사는 민감도는 높으나 독소생성유무를 추가로 확인해야 하는 단점이 있으며, 독소 면역검사법의 경우 다른 검사법들에 비해 민감도가 낮은 단점을 가지고 있다. 한편 배양법은 양성이 나오더라도 단독으로는 *C. difficile*의 독소생성유무를 확인할 수 없어 추가 검사가 필요하다는 제한점을 가지고 있다[11-13]. 또한 표준검사법

Corresponding author: Nam-Hee Ryoo

Department of Laboratory Medicine, Keimyung University School of Medicine, 56 Dalseong-ro, Jung-gu, Daegu 41931, Korea
Tel: +82-53-250-7950, Fax: +82-53-250-7275, E-mail: nhryoo@naver.com

Received: June 23, 2016

Revision received: September 13, 2016

Accepted: September 26, 2016

This article is available from <http://www.labmedonline.org>

© 2017, Laboratory Medicine Online

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

인 독소배양법은 특수한 배양 조건과 비교적 긴 검사 시간으로 인해 일반 검사실에서 실제 시행되기 어렵다.

이러한 이유로 CDI 관련 학회 및 문헌들에서는 CDI 진단을 위해 선별검사와 확진검사로 나뉘어진 2, 3단계의 검사 알고리즘을 제시하였다[2, 4, 14, 15]. 하지만 이러한 알고리즘들은 단일 검사에 비해 최종 판정까지 소요되는 시간이 길어지고[4, 15] 면역검사법의 경우 ribotype에 따라 민감도가 낮아지는 등 실제 임상 적용에 제한점이 많았다[5]. 이러한 기존 검사법들과 알고리즘의 한계점이 존재하는 가운데, 최근 분자진단검사법의 자동화와 더불어 다양한 CDI 검사법들이 개발됨에 따라 새로운 진단 알고리즘에 대한 많은 연구들이 이루어지고 있다[11, 15-17].

이에 본 연구는 한 대학병원 검사실에서 CDI 진단을 위해 의뢰된 대변 검체로 시행된 면역검사법, 배양법 및 분자진단검사법의 결과를 분석함으로써, CDI 진단검사법들의 성능을 비교 평가하고 기존 진단 알고리즘의 개선점을 모색하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 대상

한 대학병원에서 2014년 11월 7일부터 2016년 3월 7일까지 CDI 검사를 위해 검사실로 의뢰된 대변 검체 1,384개를 대상으로 하였다. 본 검사실에서는 기존에 시행하던 면역검사법인 VIDAS *C. difficile* Toxin A&B (bioMérieux SA, Marcy l'Etoile, France) 검사 및 ChromID *C. difficile* agar (bioMérieux SA)를 이용한 배양 검사와 최근 도입된 분자진단검사법인 Xpert *C. difficile* assay (Cepheid, Sunnyvale, CA, USA)를 비교 평가하기 위해, 검사실로 의뢰된 검체에 대해 세 가지 검사를 모두 시행하였다. 가능한 검사실 도착 즉시 검사를 시행하였으며, 바로 검사를 시행할 수 없는 경우 4°C에서 보관 후 최대 72시간 이내에 모든 검사를 시행하였다. 전체 검체 중 동일 환자에서 같은 날 의뢰된 중복 검체 21건은 제외하였으며, 최종 1,363개 검체의 결과를 후향적으로 분석하였다.

2. 방법

1) VIDAS *C. difficile* Toxin A&B assay

VIDAS *C. difficile* Toxin A&B assay는 *C. difficile* 독소 A와 독소 B를 효소결합형광분석법(enzyme-linked fluorescent assay)으로 검출하는 면역검사법이다. 모든 검사 과정은 제조사의 지침에 따르며, 대변 검체 200 µL를 원심분리 튜브에 분주하고 희석액 1,000 µL와 잘 혼합한 후 12,000×g에서 5분간 원심분리하였다. 이후 상층액 300 µL를 이용하여 mini VIDAS (bioMérieux SA) 장비로 CD Toxin A&B를 측정하였다. 결과는 측정된 형광 강도에 따른 결과치가 0.37 이상인 경우 양성, 0.37 미만인 경우 음성으로 판정하였다.

2) Xpert *C. difficile* assay

Xpert *C. difficile* assay는 실시간중합효소반응 원리를 이용해 *tcdB*, *cdt* 유전자의 유무, 그리고 *tcdC* 유전자의 돌연변이 유무를 검출하는 분자진단검사법이다. 전 검사 과정은 제조사의 지침에 따르며, 검체를 면봉으로 채취하여 시약 튜브에 넣고 혼합하여 카트리지 통에 옮긴 후 GeneXpert Dx (Cepheid) 장비를 이용해 검사를 시행하였다. 결과는 *tcdB*, *cdt* 유전자 및 *tcdCΔ117*을 표적으로 하는 세 개의 probe와 하나의 양성 대조군 probe의 Ct 값을 확인하여 독소생성 *C. difficile* 양성 혹은 음성으로 판정하였다.

3) ChromID *C. difficile* agar culture

ChromID *C. difficile* agar는 다른 그람 양성, 음성 세균과 진균의 배양을 억제하면서 *C. difficile* 배양을 촉진하는 선택배지로, *C. difficile*이 배양될 경우 회색 혹은 검은색의 불규칙한 경계를 가진 집락이 특징적으로 나타난다. 이 연구에서는 다른 세균들의 성장을 억제하기 위해 대변 검체를 알코올 처리한 후 배지에 희석 접종하였고[18, 19], 37°C, 무산소 환경에서 24시간 배양한 후 결과를 판독하였다. 균이 자란 경우 그람 염색을 통해 그람 양성 간균임을 확인하였으며, 집락이나 그람 염색 소견이 *C. difficile* 소견과 일치하는 경우 양성으로 판정하였다. 배양된 균이 *C. difficile* 소견과 일치하지 않는 경우에는 Vitek 2 ANC ID Card (bioMérieux SA)를 사용하여 Vitek 2 (bioMérieux SA) 자동화 장비를 통해 균종을 동정하여 양성 혹은 음성으로 판정하였다.

4) 통계 및 자료분석

Xpert 검사와 비교하여 VIDAS 검사법과 ChromID 배양법의 일치율과 Cohen's kappa 계수를 계산하였다[20]. 또한 Xpert 검사가 양성인 경우, 혹은 Xpert 검사가 음성이지만 다른 검사법 중 하나 이상이 양성이면서 영상학적 검사 혹은 내시경 검사에서 PMC의 특징적인 소견이 관찰된 경우를 CDI의 진단기준으로 정의하여 각 검사법의 민감도와 특이도를 확인하였다. 통계학적 분석에는 SPSS 20.0 (IBM Corporation, NY, USA) 프로그램을 사용하였다.

결 과

1. 검사 간 일치율

전체 검체 중 1,027검체(75.3%)는 세 검사 모두 양성이고, 101검체(7.4%)는 세 검사 모두 양성으로 세 검사의 전체 일치율은 82.7%였다(Table 1). Xpert 검사 양성 287건이었고, VIDAS 검사만 양성인 경우 중 PMC 소견이 관찰된 경우가 한 건, 배양법만 양성인 경우 중 PMC 소견이 관찰된 경우가 세 건으로 CDI로 진단된 경우는 총 291건(21.3%)이었다.

Table 1. Summary of the results of three diagnostic assays for CDI from 1,363 stool samples

Assay	VIDAS Toxin A/B assay	Xpert <i>C. difficile</i> assay	ChromID <i>C. difficile</i> agar culture	N (%)
Result	Negative	Negative	Negative	1,027 (75.3)
	Positive	Negative	Negative	8 (0.6)
	Negative	Positive	Negative	71 (5.2)
	Positive	Positive	Negative	11 (0.8)
	Negative	Negative	Positive	41 (3.0)
	Positive	Negative	Positive	0 (0.0)
	Negative	Positive	Positive	104 (7.6)
	Positive	Positive	Positive	101 (7.4)
Xpert positive				287 (21.1)
PMC findings in radiologic/endoscopic test*				4 (0.3)
True positive cases				291 (21.3)
Total				1,363 (100.0)

*In discrepant cases with a negative Xpert *C. difficile* result, CDI was diagnosed if radiologic and/or endoscopic findings of PMC were present.

각 검사 간 비교 시 전체 일치율과 양성 일치율, 음성 일치율은 Xpert 검사법과 VIDAS 검사법의 경우 각각 86.6%, 39.0%, 99.3%였으며, Xpert 검사법과 ChromID 배양법의 경우 각각 91.0%, 71.4%, 96.2%였다. VIDAS 검사법과 ChromID 배양법의 Cohen's kappa 계수는 각각 0.487 ($P < 0.05$), 0.714 ($P < 0.05$)로 Xpert 검사법과 VIDAS 검사법은 중등도의 일치(moderate agreement)를, Xpert 검사법과 ChromID 배양법은 강한 일치(substantial agreement)를 보였다(Table 2).

2. 각 검사법의 성능

VIDAS 검사법의 민감도와 특이도는 각각 38.8% (95% confidence interval, CI: 33.2–44.4%), 99.3% (95% CI: 98.9–99.8%)였으며, ChromID 배양법은 각각 71.5% (95% CI: 66.3–76.7%), 96.5% (95% CI: 95.4–97.6%)였다(Table 3). Xpert 검사법에서 음성 결과를 보였으나 CDI로 진단된 예가 4건(PMC 소견이 관찰되면서 VIDAS 검사만 양성인 1건과 배양법만 양성인 3건)이 확인되어 Xpert 검사법의 민감도는 98.6% (287/291)였다.

고 찰

2000년대 초 북미와 유럽에서 고병원성 *C. difficile* 균주가 유행하면서 신속하고 정확한 CDI 진단과 치료의 필요성이 대두되었고 [21–23], 새로운 검사법에 대한 많은 연구들이 이루어져 왔다. 그 중 실시간중합효소연쇄반응 등을 이용한 분자진단검사법은 다른 검사법들에 비해 높은 민감도와 특이도를 가지는 것으로 확인되었으며 [5, 8, 9, 12], 표준검사법인 독소배양법과의 비교 연구에서도 우

Table 2. Agreement on results in comparison with the Xpert *C. difficile* assay

	OPA	PPA	NPA	κ coefficient (95% CI)	P value
	%				
VIDAS	86.6	39.0	99.3	0.487 (0.423–0.543)	<0.05
ChromID	91.0	71.4	96.2	0.714 (0.668–0.759)	<0.05

Abbreviations: OPA, overall percentage agreement; PPA, positive percentage agreement; NPA, negative percentage agreement; CI, confidence interval.

Table 3. Performance of the VIDAS Toxin A/B assay and ChromID *C. difficile* culture

	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV
	% (95% CI)			
VIDAS	38.8 (33.2–44.4)	99.3 (98.9–99.8)	94.2 (90.0–98.4)	85.7 (83.7–87.6)
ChromID	71.5 (66.3–76.7)	96.5 (95.4–97.6)	84.6 (80.0–89.1)	92.6 (91.0–94.1)

Abbreviations: PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value; CI, confidence interval.

수한 성적을 보였다 [3, 6, 7, 10, 16]. 일부 문헌과 가이드라인에서는 CDI 진단을 위한 2, 3단계 알고리즘을 대체할 방법으로 분자진단 검사법 단독 사용을 제안하였고 [14, 16, 17], 최근 CDI 검사법에 대한 연구들에서는 독소배양법 대신 분자진단검사법을 표준검사법으로 사용하는 경우도 있었다 [12, 24]. 본 연구 또한 분자진단검사법인 Xpert 검사법이 양성인 경우를 기준으로 CDI로 진단하였다.

면역검사법인 VIDAS 검사법은 본 연구에서 38.8%의 낮은 민감도를 나타냈으며, 이는 33.3–76.0%의 낮은 민감도를 보인 기존 문헌들의 결과와도 유사하였다 [2–5, 12, 13, 25]. ChromID 배양법의 민감도는 본 연구에서 71.5%로, 역시 기존 문헌들에서 보고된 74.1–98.0%와 유사한 수준이었다 [13, 26]. 분자진단검사법인 Xpert 검사법은 다른 두 검사법들과 비교했을 때 높은 양성률을 보였다. VIDAS 검사법은 민감도가 너무 낮아 CDI 진단에 사용하기에는 부적합하다고 생각되었으며, ChromID 배양법 역시 단독으로 CDI를 판정하기에는 민감도가 낮고 독소를 생성하지 않는(non-toxigenic) *C. difficile*이 배양되는 위양성의 가능성이 존재한다. GDH 면역검사법은 본 연구에서는 시행하지 못 하였으나, 많은 연구들에서 민감도는 높지만 단독으로는 CDI를 판정할 수 없어 항상 다른 검사들과 함께 사용되어야만 하는 한계점을 가진 것으로 보고되었다 [2, 3, 5, 14]. 그리고 한 연구 [5]에서는 독소배양법을 기준으로 GDH 면역검사법과 독소 면역검사법을 결합한 알고리즘을 평가하였으며, 이때 *C. difficile*의 ribotype에 따라 민감도가 15.4%에서 75.0%까지 차이를 보였다. 같은 연구에서 Xpert 검사법의 경우 ribotype에 따라 75.0%에서 100.0%까지의 민감도를 보여 면역검사법들에 비해 훨씬 우수한 성능을 보여주었다.

일부 문헌에서는 독소 검사법과 배양법이 모두 양성인 경우를

CDI 진단 기준으로 사용한 경우가 있었으며[8-10], 이러한 기준을 본 연구에 적용하여 VIDAS 검사법과 ChromID 배양법 모두 양성인 경우를 CDI로 간주하는 경우 Xpert 검사법의 민감도와 특이도는 96.2% (95% CI: 92.5-99.9%)와 85.2% (95% CI: 99.3-100.0%)로 다른 검사법들에 비해 우수한 성능을 보였다.

이번 연구에서는 Xpert 검사법에서도 위음성이 존재할 수 있음이 확인되었는데, VIDAS 검사법에서만 양성으로 나온 CDI가 한 건 존재하였으며, ChromID 배양법에서만 양성인 사례 중 PMC 소견이 보인 경우도 세 건이 존재하였다. 본 연구에서 Xpert 검사 음성인 반면 VIDAS 검사 혹은 배양법에서 양성인 49건 중 영상학적 혹은 내시경 검사를 시행한 사례는 13건뿐이었고, 따라서 나머지 36건 중에서도 영상학적 혹은 내시경 검사를 시행했다면 추가로 위음성 사례가 발견되었을 것으로 예상된다. 이러한 위음성의 가능성을 가진 Xpert 검사법은 불완전 표준검사법(imperfect reference test)으로, 본 연구에서 Xpert 검사법을 기준으로 확인한 타 검사법의 민감도와 특이도는 어느 정도의 오류 가능성을 내재하고 있다는 한계점이 있다. 그리고 기존 CDI 진단을 위한 가이드라인에서는 *C. difficile* 검사에서 양성인 경우 “test of cure”, 즉 치료효과 판정을 위한 추적 검사는 권유하지 않고 있으나 이번 연구에서는 이러한 추적 검사들을 모두 배제하지는 못한 한계가 있었다[2, 14].

CDI의 진단과 치료가 늦어질 경우 환자의 임상 경과가 악화되고 재원 기간이 증가할 위험이 있으므로 항생제 관련 설사 환자에서 신속하고 정확한 CDI의 진단은 매우 중요하다. 본 연구를 통해 분자진단검사법의 우수한 성능을 입증한 기존의 연구들을 뒷받침하는 결과를 얻을 수 있었으며, 이러한 검사법이 CDI의 초기 진단에 결정적인 역할을 할 수 있을 것으로 생각된다. 하지만 우수한 성능이 여러 문헌들에서 입증되었음에도 불구하고 분자진단검사법이 다단계 진단 알고리즘을 완전히 대체하지 못하는 이유는 면역검사법에 비해 높은 비용과 긴 검사소요시간(turn-around time, TAT), 그리고 여러 문헌들에서 지적된 위양성의 문제 때문이다[6, 9, 10]. 각 CDI 검사법의 소요 비용과 TAT를 조사한 일부 연구들[12, 15-17]에 의하면 분자진단검사법의 비용은 면역검사법의 약 2-10배이고, TAT 역시 Xpert 검사법 외의 분자진단검사법은 면역검사법에 비해 긴 편으로 이러한 단점들이 분자진단검사법을 CDI 진단의 초기 검사로 사용하는 데 장애가 되어 왔다. 그런데 최근 한 연구[15]에서는 면역검사법만으로 초기 검사를 시행한 경우 CDI 진단 지연에 의해 초기 치료가 늦어질 수 있고, 이로 인한 원내 전파의 증가와 재원 기간 연장이 결국 전체 비용을 증가시킬 수 있다는 점을 언급하고 있다. 이러한 점들을 고려할 때 분자진단검사법을 초기에 시행함으로써 CDI의 진단과 치료에 필요한 전체 비용을 평균적으로 감소시킬 수 있을 것이다. 그리고 Xpert 검사법은 다른

분자진단검사법들과는 달리 면역검사법과 큰 차이가 없는 짧은 검사소요시간을 가지고 있다는 장점이 있으며, 다른 신속 분자진단 검사법들도 지속적으로 상용화되고 있다[12, 17].

따라서 저자는 CDI 진단에 있어 초기에 면역검사법을 우선 시행하는 기존의 다단계 알고리즘을 사용하기보다 즉시 및 개별 검사가 가능한 신속 분자진단검사법을 우선 시행하는 것이 CDI의 빠른 진단 및 치료에 도움이 될 것으로 판단하였다. 영상학적 검사와 내시경 검사 역시 CDI의 진단에 도움을 줄 수는 있지만, 방사선 노출과 침습적 시술에 따른 합병증의 위험성이 존재하므로 검사실적 검사를 우선 시행한 후 그 결과에 따라 제한적으로 시행하는 것이 비용 대비 효율적일 것으로 사료된다. 그리고 추가 연구들에서 분자진단검사법을 비롯한 여러 검사실적 검사법들의 결과와 함께 영상학적 혹은 내시경 검사 결과를 확인 및 비교해 본다면 각 검사법들의 성능과 효용성을 좀 더 정확히 평가하는 데 도움이 될 것이라 생각된다.

요 약

배경: *Clostridium difficile*은 항생제 사용 후 발생하는 위막성 대장염(pseudomembranous colitis, PMC)의 주요 원인균이다. *C. difficile* 감염(*C. difficile* infection, CDI)의 진단을 위해서는 이전 항생제 사용력, 지속적인 설사 등의 병력을 가지는 환자를 대상으로 *C. difficile* 독소를 검출하는 것이 필수적이다. 본 연구에서는 한 대학병원 임상미생물 검사실로 CDI 진단을 위해 의뢰된 대변 검체 1,363개를 대상으로 시행된 세 가지 방법의 *C. difficile* 검사 결과를 분석하여 각 검사법들의 성능과 실제 유용성을 확인하고자 하였다.

방법: 각 검체는 면역검사법인 VIDAS *C. difficile* Toxin A&B (bioMérieux SA, France) 검사와 실시간중합효소연쇄반응을 기반으로 하는 Xpert *C. difficile* assay (Cepheid, USA) 검사 및 ChromID *C. difficile* agar (bioMérieux SA, France)를 이용한 배양 검사를 모두 시행하였다. CDI의 진단기준은 Xpert 검사 결과가 양성인 경우와 VIDAS 검사법이나 배양법 두 가지 중 하나 이상이 양성인 반면 영상학적 검사 혹은 내시경 검사에서 PMC가 진단된 경우로 정의하였다.

결과: 전체 검체 중 1,027검체(75.3%)는 세 검사 모두 음성하였고, 101검체(7.4%)는 세 검사 모두 양성으로 세 검사의 전체 일치율은 82.7%였다. 또한 최종적으로 CDI로 진단된 경우는 총 291건(21.3%)이었다. 각 검사법의 민감도와 특이도는 VIDAS 검사법의 경우 38.8%, 99.3%였으며, ChromID 배양법은 각각 71.5%, 96.5%였다. VIDAS 검사법과 배양법의 경우 단독으로 사용하기에는 민감도 면에서 부족한 결과를 보였고, Xpert 검사법은 높은 민감도(98.6%, 287/291)

를 보였다.

결론: CDI 진단에 있어 초기 검사법으로 Xpert 검사법과 같은 신속분자진단검사법을 시행하는 것이 효율적일 것으로 생각되었다.

이해관계

저자들은 본 연구와 관련하여 해당 회사와 이해관계가 없음.

REFERENCES

- Bartlett JG, Chang TW, Gurwith M, Gorbach SL, Onderdonk AB. Antibiotic-associated pseudomembranous colitis due to toxin-producing clostridia. *N Engl J Med* 1978;298:531-4.
- Bagdasarian N, Rao K, Malani PN. Diagnosis and treatment of *Clostridium difficile* in adults: a systemic review. *JAMA* 2015;313:398-408.
- Swindells J, Brenwald N, Reading N, Oppenheim B. Evaluation of diagnostic tests for *Clostridium difficile* infection. *J Clin Microbiol* 2010; 48:606-8.
- Novak-Weekley SM, Marlowe EM, Miller JM, Cumpio J, Nomura JH, Vance PH, et al. *Clostridium difficile* testing in the clinical laboratory by use of multiple testing algorithms. *J Clin Microbiol* 2010;48:889-93.
- Tenover FC, Novak-Weekley S, Woods CW, Peterson LR, Davis T, Schreckenberger P, et al. Impact of strain type on detection of toxigenic *Clostridium difficile*: comparison of molecular diagnostic and enzyme immunoassay approaches. *J Clin Microbiol* 2010;48:3719-24.
- Knetsch CW, Bakker D, de Boer RF, Sanders I, Hofs S, Kooistra-Smid AM, et al. Comparison of real-time PCR techniques to cytotoxigenic culture methods for diagnosing *Clostridium difficile* infection. *J Clin Microbiol* 2011;49:227-31.
- Pancholi P, Kelly C, Raczkowski M, Balada-Llasat JM. Detection of toxigenic *Clostridium difficile*: comparison of the cell culture neutralization, Xpert *C. difficile*, Xpert *C. difficile*/Epi, and Illuigene *C. difficile* assays. *J Clin Microbiol* 2012;50:1331-5.
- Sloan LM, Duresko BJ, Gustafson DR, Rosenblatt JE. Comparison of real-time PCR for detection of the *tcdC* gene with four toxin immunoassays and culture in diagnosis of *Clostridium difficile* infection. *J Clin Microbiol* 2008;46:1996-2001.
- Karre T, Sloan L, Patel R, Mandrekar J, Rosenblatt J. Comparison of two commercial molecular assays to a laboratory-developed molecular assay for diagnosis of *Clostridium difficile* infection. *J Clin Microbiol* 2011;49:725-7.
- Yoo J, Lee H, Park KG, Lee GD, Park YG, Park YJ. Evaluation of 3 automated real-time PCR (Xpert *C. difficile* assay, BD MAX Cdiff, and IMDx *C. difficile* for Abbott m2000 assay) for detecting *Clostridium difficile* toxin gene compared to toxigenic culture in stool specimens. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2015;83:7-10.
- Carroll KC and Loeffelholz M. Conventional versus molecular methods for the detection of *Clostridium difficile*. *J Clin Microbiol* 2011;49(S): 49-52.
- Whang DH and Joo SY. Evaluation of the diagnostic performance of the Xpert *Clostridium difficile* assay and its comparison with the toxin A/B enzyme-linked fluorescent assay and in-house real-time PCR assay used for the detection of toxigenic *C. difficile*. *J Clin Lab Anal* 2014; 28:124-9.
- Yang JJ, Nam YS, Kim MJ, Cho SY, You E, Soh YS, et al. Evaluation of a chromogenic culture medium for the detection of *Clostridium difficile*. *Yonsei Med J* 2014;55:994-8.
- Sharp S and Gilligan PH. A practical guidance document for the laboratory detection of toxigenic *Clostridium difficile*. ASM Public and Scientific Affairs Board (PSAB) Committee on Laboratory Practices, American Society for Microbiology (ASM), Washington, D.C. (2010). http://www.asm.org/images/pdf/Clinical/clostridiumdifficile_9-21.pdf (Updated on Sep 2010)
- Verhoye E, Vandecandelaere P, De Beenhouwer H, Coppens G, Cartuyvels R, Van den Abeele A, et al. A hospital-level cost-effectiveness analysis model for toxigenic *Clostridium difficile* detection algorithms. *J Hosp Infect* 2015;91:123-8.
- Tenover FC, Baron EJ, Peterson LR, Persing DH. Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* infection: can molecular amplification methods move us out of uncertainty? *J Mol Diagn* 2011;13:573-82.
- Brecher SM, Novak-Weekley SM, Nagy E. Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* infections: there is light at the end of colon. *Clin Infect Dis* 2013;57:1175-81.
- Riley TV, Brazier JS, Hassan H, Williams K, Phillips KD. Comparison of alcohol shock enrichment and selective enrichment for the isolation of *Clostridium difficile*. *Epidemiol Infect* 1987;99:355-9.
- Clabots CR, Gerding SJ, Olson MM, Peterson LR, Gerding DN. Detection of asymptomatic *Clostridium difficile* carriage by an alcohol shock procedure. *J Clin Microbiol* 1989;27:2386-7.
- Cohen J. A coefficient of agreement for nominal scales. *Educ Psychol Meas* 1960;20:37-46.
- McDonald LC, Killgore GE, Thompson A, Owens RC Jr, Kazakova SV, Sambol SP, et al. An epidemic, toxin gene-variant strain of *Clostridium difficile*. *N Engl J Med* 2005;353:2433-41.

22. Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P. Emergence of *Clostridium difficile*-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect 2006;12:2-18.
23. Redelings MD, Sorvillo F, Mascola L. Increase in *Clostridium difficile*-related mortality rates, United States, 1999-2004. Emerg Infect Dis 2007; 13:1417-9.
24. Yoldaş Ö, Altındış M, Cufalı D, Aşık G, Keşli R. A Diagnostic algorithm for the detection of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. Balkan Med J 2016;33:80-6.
25. Planche T, Aghaizu A, Holliman R, Riley P, Polonieki J, Breathnach A, et al. Diagnosis of *Clostridium difficile* infection by toxin detection kits: a systematic review. Lancet Infect Dis 2008;8:777-84.
26. Eckert C, Burghoffer B, Lalande V, Barbut F. Evaluation of the chromogenic agar chromID *C. difficile*. J Clin Microbiol 2013;51:1002-4.

K C I