



SZABO SCANDIC

Part of Europa Biosite

Produktinformation



Forschungsprodukte & Biochemikalien



Zellkultur & Verbrauchsmaterial



Diagnostik & molekulare Diagnostik



Laborgeräte & Service

Weitere Information auf den folgenden Seiten!
See the following pages for more information!



Lieferung & Zahlungsart

siehe unsere [Liefer- und Versandbedingungen](#)

Zuschläge

- Mindermengenzuschlag
- Trockeneiszuschlag
- Gefahrgutzuschlag
- Expressversand

SZABO-SCANDIC HandelsgmbH

Quellenstraße 110, A-1100 Wien

T. +43(0)1 489 3961-0

F. +43(0)1 489 3961-7

mail@szabo-scandic.com


www.szabo-scandic.com

[linkedin.com/company/szaboscandic](https://www.linkedin.com/company/szaboscandic) 

RIDA[®] GENE Clostridium difficile
real-time PCR

Art. Nr.: PG0835
100 Reaktionen

Für die *in-vitro* Diagnostik.

 -20 °C



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstraße 17, D-64297 Darmstadt, Germany

Tel.: +49 (0) 61 51 81 02-0 / Telefax: +49 (0) 61 51 81 02-20



1. Verwendungszweck

Für die *in-vitro* Diagnostik. RIDA[®]GENE Clostridium difficile ist eine real-time multiplex PCR zum direkten qualitativen Nachweis und zur Differenzierung von *Clostridium difficile* (16s-rDNA) und der *Clostridium difficile* Toxin-Gene A (tcdA) und B (tcdB) aus humanen Stuhl- und Kulturproben. Die RIDA[®]GENE Clostridium difficile real-time multiplex PCR dient als Hilfsmittel zur Diagnose einer *Clostridium difficile* assoziierten Diarrhoe (CDAD).

2. Erläuterung

Die Erstbeschreibung von *Clostridium difficile*, eines gram-positiven sporenbildenden anaeroben Bakteriums, erfolgte 1935 durch Hall und O'Toole, die die Darmflora gesunder Säuglinge untersuchten.¹ Erst in den späten 1970er wurde *Clostridium difficile* als Erreger der Antibiotika-assoziierten Diarrhoe sowie der pseudomembranösen Kolitis identifiziert.² Heute ist *Clostridium difficile* einer der häufigsten Erreger der nosokomialen Diarrhoe.

Clostridium difficile ist die Hauptursache bei 15-25% aller Patienten mit Antibiotika-assoziierten Diarrhoe und bei fast allen Patienten mit pseudomembranöser Kolitis.³ Prädisponierende Risikofaktoren für eine *Clostridium difficile* assoziierte Diarrhoe sind z.B. Antibiotikatherapie, Alter des Patienten, sowie Länge und Anzahl der Krankenhausaufenthalte. Zunehmend erkranken aber auch nicht Antibiotika-therapierte und nicht hospitalisierte Patienten an einer *Clostridium difficile* Infektion.

Die Krankheitssymptome reichen von leichten Durchfällen über Darmentzündungen unterschiedlicher Schwere bis hin zur pseudomembranösen Kolitis, der schwersten Form der Antibiotika-assoziierten Diarrhoe. Die klinische Symptomatik wird durch toxigene Stämme von *Clostridium difficile*, die das Toxin A und Toxin B produzieren, hervorgerufen. In den letzten Jahren stiegen Anzahl und Schwere der Erkrankungen weltweit an.⁴

Die real-time PCR liefert schnell hochsensitive und spezifische Patientenergebnisse bei Verdacht auf eine CDAD. Dies ermöglicht eine schnelle spezifische Behandlung von CDAD-Patienten und die Einleitung von Hygienemaßnahmen.

3. Testprinzip

RIDA[®]GENE Clostridium difficile ist eine real-time multiplex PCR zum direkten qualitativen Nachweis und zur Differenzierung von *Clostridium difficile* (16s-rDNA) und der *Clostridium difficile* Toxin-Gene A (tcdA) und B (tcdB) aus humanen Stuhl- und Kulturproben.

Nach der DNA-Isolierung werden (falls vorhanden) sowohl die spezifischen Genfragmente von *Clostridium difficile* als auch die von Toxin A und Toxin B amplifiziert.

Die amplifizierten Zielsequenzen werden mit Hydrolyse-Sonden, die an einem Ende mit dem Quencher und am anderen Ende mit einem Reporter-Fluoreszenzfarbstoff (Fluorophor) markiert sind, nachgewiesen. In Gegenwart einer Zielsequenz hybridisieren die Sonden mit den Amplikons. Während der Extension trennt die Taq-Polymerase den Reporter vom Quencher. Der Reporter emittiert ein Fluoreszenzsignal, das durch die optische Einheit eines real-time PCR-Gerätes detektiert wird. Das Fluoreszenzsignal steigt mit der Menge der gebildeten Amplikons an. Der RIDA[®]GENE Clostridium difficile Test enthält eine Internal Control DNA (ICD), um die Probenpräparation und/oder eine potentielle PCR Inhibition kontrollieren zu können.

4. Packungsinhalt

Tab.1: Packungsinhalt (Die Reagenzien einer Packung reichen für 100 Bestimmungen)

| Kit Code | Reagenz | Menge | Deckelfarbe |
|----------|----------------------|------------|-------------|
| 1 | Reaction Mix | 2x 1100 µl | gelb |
| 2 | Taq-Polymerase | 1x 11 µl | rot |
| D | Internal Control DNA | 2x 1800 µl | orange |
| N | PCR Water | 1x 500 µl | weiß |
| P | Positive Control | 1x 200 µl | blau |

5. Reagenzien und ihre Lagerung

- Alle Reagenzien müssen lichtgeschützt bei -20 °C gelagert werden und können bis zum aufgedruckten Verfallsdatum verwendet werden. Nach Erreichen des Verfallsdatums kann keine Qualitätsgarantie mehr übernommen werden.
- Vor dem Gebrauch sollten die Reagenzien schonend aufgetaut werden (z.B. im Kühlschrank bei 2 - 8 °C).
- Ein wiederholtes Einfrieren/Auftauen bis zu 20 Mal beeinträchtigt die Testeigenschaft nicht (ggf. Aliquots nach dem ersten Auftauen herstellen und die Reagenzien sofort wieder einfrieren).
- Alle Reagenzien während der PCR-Vorbereitung geeignet kühlen (2 - 8 °C).

6. Zusätzlich benötigte Geräte und Materialien

- DNA-Extraktionskit für Stuhlproben (z.B. RTP[®] Pathogen Kit, STRATEC Molecular) oder
DNA-Extraktionssysteme für Stuhlproben (z.B. Maxwell[®] 16 (Promega), NucliSENS easy[®]MAG[™] (bioMérieux))
- Heizblock bei 95°C
- Real-time PCR-Gerät:
 - Roche: LightCycler[®] 480II
 - Cepheid: SmartCycler[®]
 - Applied Biosystems: ABI 7500
 - Abbott: m2000rt
 - Stratagene: Mx3000P, Mx3005P
 - QIAGEN: Rotor-Gene Q
- RIDA[®]GENE Color Compensation Kit I (PG0001) bei Verwendung des LightCycler[®] 480 II (Roche)
- Real-time PCR Verbrauchsmaterialien (Platten, Reaktionsgefäße, Folien)
- Zentrifuge mit Rotor für Reaktionsgefäße
- Vortexer
- Pipetten (0,5 – 20 µl, 20 – 200 µl, 100 – 1000 µl)
- Pipettenspitzen mit Filtern
- Puderfreie Einmalhandschuhe

7. Vorsichtsmaßnahmen

- Nur für die *in-vitro* Diagnostik.
- Eine räumliche Trennung von Extraktion, PCR-Ansatz und PCR ist zu beachten, um Querkontaminationen zu vermeiden.
- Dieser Test ist nur von molekularbiologisch geschultem Laborpersonal durchzuführen.
- Die Gebrauchsanweisung zur Durchführung des Tests ist strikt einzuhalten.
- Während des Umgangs mit Proben Einmalhandschuhe tragen und nach Abschluss des Tests die Hände waschen.
- In den Bereichen, in denen mit Proben gearbeitet wird, nicht rauchen, essen oder trinken.
- Klinische Proben müssen als potentiell infektiös angesehen werden und müssen wie sämtliche Reagenzien und Materialien, die mit potentiell infektiösen Proben zusammenkommen, entsprechend entsorgt werden.
- Testkit nach Erreichen des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.

8. Testdurchführung

8.1 Probenvorbereitung

8.1.1 DNA-Isolierung aus Stuhlproben

Für die DNA-Isolierung aus Stuhlproben wird ein kommerziell erhältliches DNA-Isolierungskit (z.B. RTP[®] Pathogen Kit (STRATEC Molecular)) oder DNA-Extraktionssystem (z.B. Maxwell[®] 16 (Promega)) empfohlen. Die Angaben des Herstellers sind zu beachten.

Es wird empfohlen die Stuhlproben vor der Extraktion 1:3 mit Wasser zu verdünnen, stark vortexen und 30 sec bei 3.000 rpm zentrifugieren. Aus dem Überstand das entsprechende Volumen nach Angaben des Herstellers verwenden.

Der RIDA[®]GENE Clostridium difficile Test enthält eine Internal Control DNA (ICD), die entweder nur als Inhibitionskontrolle oder als Extraktionskontrolle für die Probenpräparation und Inhibitionskontrolle verwendet werden kann.

Wird die Internal Control DNA (ICD) nur als Inhibitionskontrolle verwendet, muss 1 µl der ICD dem Master-Mix hinzugefügt werden (s. Tab.3).

Wird die Internal Control DNA (ICD) als Extraktionskontrolle für die Probenpräparation **und** als Inhibitionskontrolle verwendet, müssen 20 µl der ICD während der Extraktion eingesetzt werden. Die ICD soll dem Proben-Lysispuffer Mix und **nicht** direkt dem Probenmaterial zugefügt werden.

8.1.2 DNA-Isolierung aus Kulturproben

Für die DNA-Isolierung aus Kulturproben wird folgende Isolierungsmethode empfohlen: In ein Präparationsröhrchen 1 ml A. dest (DNase frei) geben. Mit einer Impföse mehrere Kolonien sammeln und im A. dest (DNase frei) suspendieren. Den Stab der Impföse abbrechen oder abschneiden. Das Präparationsröhrchen dicht verschließen und 60 Sekunden stark vortexen. Danach im Heizblock für 10 min bei 95°C unter Schütteln erhitzen. Anschließend bei 12.000 rpm 1 min zentrifugieren und den Überstand als Probe einsetzen.

Hinweis: Bei starker Trübung den Zentrifugationsschritt ggf. wiederholen.

Der RIDA®GENE Clostridium difficile Test enthält eine Internal Control DNA (ICD), die entweder nur als Inhibitionskontrolle oder als Extraktionskontrolle für die Probenpräparation und Inhibitionskontrolle verwendet werden kann.

Wird die Internal Control DNA (ICD) nur als Inhibitionskontrolle verwendet, muss 1 µl der ICD dem Master-Mix hinzugefügt werden (s. Tab.3).

Wird die Internal Control DNA (ICD) als Extraktionskontrolle für die Probenpräparation **und** als Inhibitionskontrolle verwendet, müssen 20 µl der ICD während der DNA-Isolierung eingesetzt werden. Die ICD soll dem Proben-A.dest Mix und **nicht** direkt dem Probenmaterial zugefügt werden.

8.2 Herstellung des Master-Mix

Die Gesamtzahl der für die PCR benötigten Reaktionen (Proben und Kontrollreaktionen) ist zu berechnen. Bei jedem Testlauf muss eine Positiv- und eine Negativkontrolle mitgeführt werden.

Es wird empfohlen den Master-Mix mit 10 % zusätzlichem Volumen anzusetzen, um einen Pipettierverlust auszugleichen (s. Tab.2, Tab.3). Vor der Benutzung den Reaction Mix, die Taq-Polymerase, die Positive Control, das PCR Water und die ICD auftauen, durchmischen und kurz zentrifugieren. Reagenzien während der Arbeitsschritte stets geeignet kühlen (2 – 8 °C).

Tab.2: Beispiel für die Berechnung und Herstellung des Master-Mix für 10 Reaktionen (ICD als Extraktions- und Inhibitionskontrolle)

| Kit Code | Komponenten des Master-Mix | Menge pro Reaktion | 10 Reaktionen (zusätzlich 10 %) |
|----------|----------------------------|--------------------|------------------------------------|
| 1 | Reaction Mix | 19,9 µl | 218,9 µl |
| 2 | Taq-Polymerase | 0,1 µl | 1,1 µl |
| | Gesamt | 20,0 µl | 220 µl |

Master-Mix mischen und anschließend kurz abzentrifugieren.

Tab.3: Beispiel für die Berechnung und Herstellung des Master-Mix für 10 Reaktionen (ICD nur als Inhibitionskontrolle)

| Kit Code | Komponenten des Master-Mix | Menge pro Reaktion | 10 Reaktionen (zusätzlich 10 %) |
|----------|----------------------------|--------------------|------------------------------------|
| 1 | Reaction Mix | 19,9 µl | 218,9 µl |
| 2 | Taq-Polymerase | 0,1 µl | 1,1 µl |
| D | Internal Control DNA | 1,0 µl | 11 µl |
| | Gesamt | 21,0 µl | 231,0 µl |

Master-Mix mischen und anschließend kurz abzentrifugieren.

8.3 Herstellung des PCR-Mix

Je 20 µl des Master-Mix in die jeweiligen Reaktionsgefäße (Gefäße/Platten) pipettieren.

Negativkontrolle: Je 5 µl PCR Water zum vorgelegten Master-Mix als Negativkontrolle pipettieren.

Hinweis: Wir empfehlen bei Verwendung der ICD als Extraktionskontrolle für die Probenpräparation **und** die Inhibitionskontrolle je 1 µl der ICD zum PCR-Mix der Negativkontrolle zu pipettieren.

Proben: Je 5 µl DNA-Extrakt zum vorgelegten Master-Mix der Probenreaktionen pipettieren.

Positivkontrolle: Je 5 µl Positive Control zum vorgelegten Master-Mix in die dafür vorgesehenen Reaktionsgefäße pipettieren.

Hinweis: Wir empfehlen bei Verwendung der ICD als Extraktionskontrolle für die Probenpräparation **und** die Inhibitionskontrolle je 1 µl der ICD zum PCR-Mix der Positivkontrolle zu pipettieren.

Reaktionsgefäße bzw. Platte verschließen, mit wenigen Umdrehungen pro Minute kurz abzentrifugieren und in das real-time PCR-Gerät überführen. Die PCR entsprechend der Geräteeinstellung starten (s. Tab.4, Tab.5).

8.4 Geräteeinstellungen

Tab.4: Real-time PCR Profil für LightCycler® 480II, SmartCycler® und Rotor-Gene Q

| | |
|---|---------------|
| Initiale Denaturierung | 1 min, 95 °C |
| Zyklen | 45 Zyklen |
| PCR Denaturierung | 10 sec, 95 °C |
| Annealing / Extension | 15 sec, 60 °C |
| Temperature Transition Rate / Ramp Rate | Maximum |

Bemerkung: Das Annealing und die Extension finden im selben Schritt statt.

Hinweis: Bei Verwendung des SmartCycler® (Cepheid) müssen die Man. Grenzwert Flour. Einheiten für Kanal 1 auf 30.0 und für Kanal 2 und 4 auf 5.0 eingestellt werden.

Tab.5: Real-time PCR Profil für Mx3000P, Mx3005P, ABI Serie und m2000rt

| | |
|---|---------------|
| Initiale Denaturierung | 1 min, 95 °C |
| Zyklen | 45 Zyklen |
| PCR Denaturierung | 15 sec, 95 °C |
| Annealing / Extension | 30 sec, 60 °C |
| Temperature Transition Rate / Ramp Rate | Maximum |

Bemerkung: Das Annealing und die Extension finden im selben Schritt statt.

8.5 Detektionskanaleinstellung

Tab.6: Auswahl der geeigneten Detektionskanäle

| Real-time PCR Gerät | Nachweis | Detektionskanal | Dark-Quencher | Bemerkung |
|-----------------------------|--|-----------------|---------------|--|
| Roche LightCycler® 480II | <i>Clostridium difficile</i> | 465/510 | + | RIDA®GENE Color Compensation Kit I (PG0001) wird benötigt |
| | ICD | 533/580 | + | |
| | <i>C.difficile</i> Toxin A/B Gen | 618/660 | + | |
| Cepheid SmartCycler® | <i>Clostridium difficile</i> | Kanal 1 | + | Stellen Sie die Man. Grenzwert Flour. Einheiten für Kanal 1 auf 30.0 und für Kanal 2 und 4 auf 5.0 ein |
| | ICD | Kanal 2 | + | |
| | <i>C.difficile</i> Toxin A/B Gen | Kanal 4 | + | |
| ABI 7500 | <i>Clostridium difficile</i> | FAM | none | Stellen Sie den passiven Referenzfarbstoff ROX auf none |
| | ICD | VIC | none | |
| | <i>C.difficile</i> Toxin A/B Gen | Cy5 | none | |
| Abbott m2000rt | <i>Clostridium difficile</i> | FAM | none | - |
| | ICD | VIC | none | |
| | <i>C.difficile</i> Toxin A/B Gen | Cy5 | none | |
| Stratagene Mx3000P/ Mx3005P | <i>Clostridium difficile</i> | FAM | + | Stellen Sie den Referenzfarbstoff auf none |
| | ICD | HEX | + | |
| | <i>C.difficile</i> Toxin A/B Gen | Cy5 | + | |
| Qiagen Rotor-Gene Q | <i>Clostridium difficile</i> | Green | + | - |
| | ICD | Yellow | + | |
| | <i>Clostridium difficile</i> Toxin A/B | Red | + | |

9. Interpretation der Ergebnisse

Die Auswertung der Proben erfolgt über die Analyse-Software des jeweiligen real-time PCR-Gerätes nach den Angaben des Herstellers. Negativ- und Positivkontrollen müssen die korrekten Ergebnisse zeigen (s. Abb.1, Abb.2). Die Positivkontrolle liegt in einer Konzentration von 10^3 Kopien / μl vor. Sie wird in einer Gesamtmenge von 5×10^3 Kopien in jedem PCR Lauf eingesetzt.

Abb.1: Korrekter Verlauf der Positiv- und Negativkontrolle (*C. difficile*) auf dem LightCycler® 480II

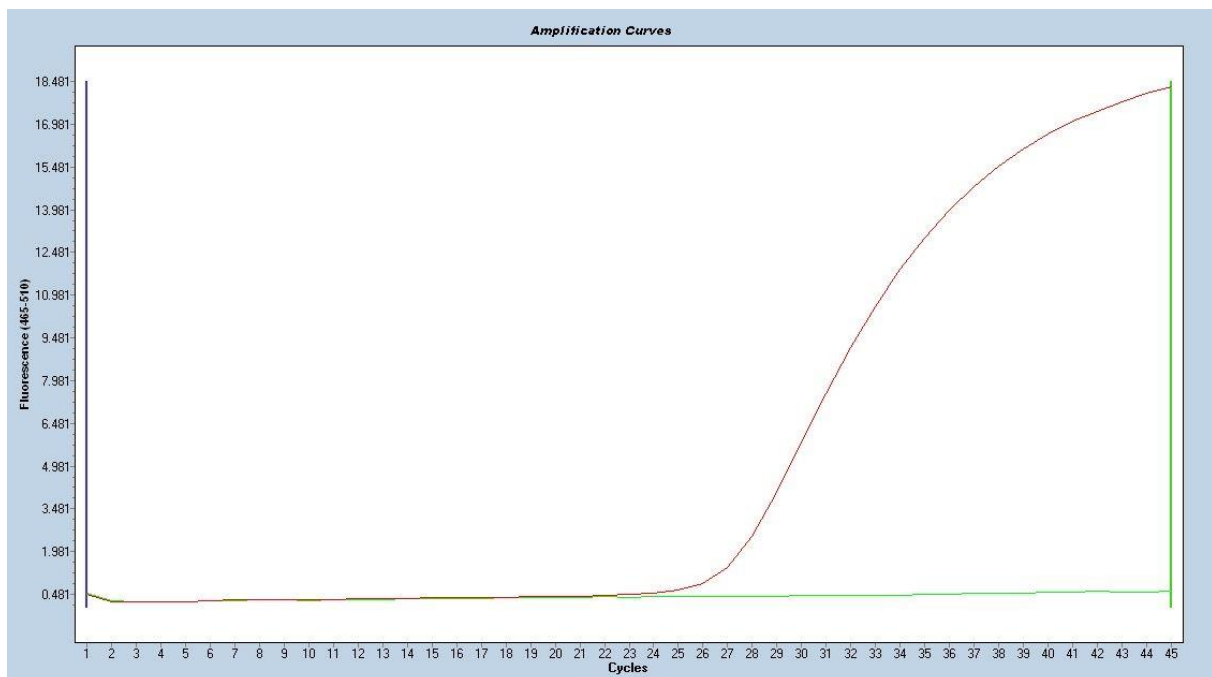
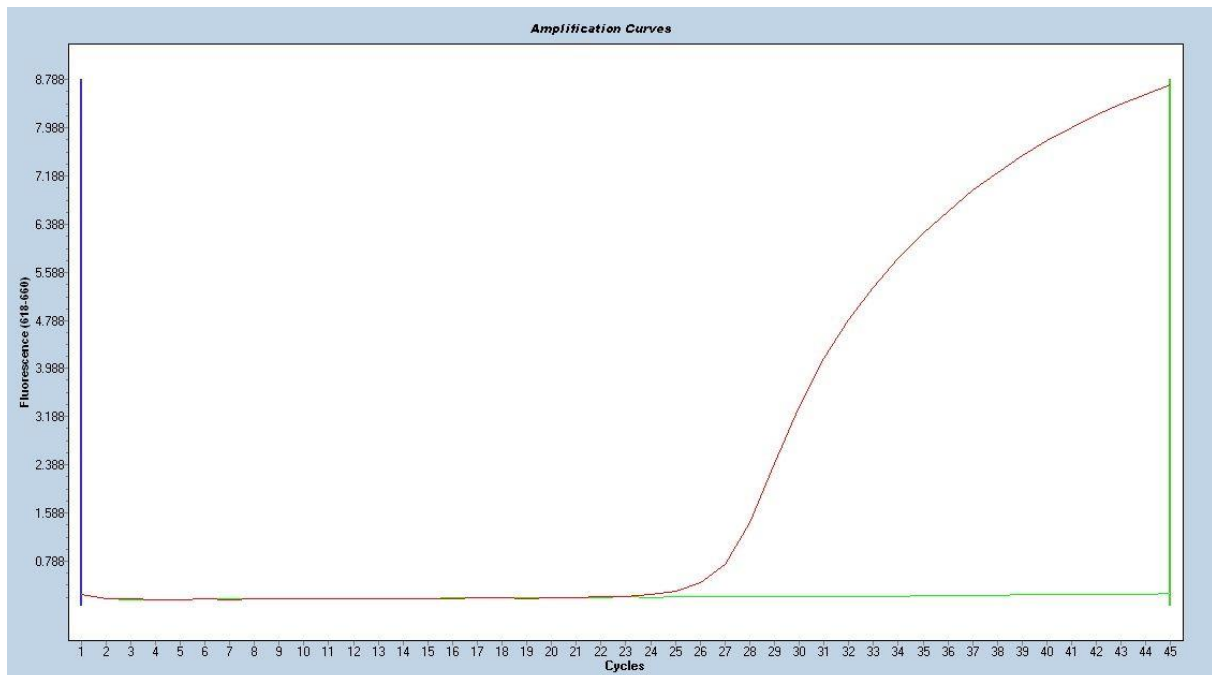


Abb.2: Korrekter Verlauf der Positiv- und Negativkontrolle (*C. difficile* Toxin A/B Gene) auf dem LightCycler® 480II



Die Probenauswertung der Ergebnisse erfolgt nach Tabelle 7.

Tab. 7: Probenauswertung

| Zielgene | | | |
|-------------------------------|---------------------------|-----------------|--|
| <i>C.difficile</i> (16s-rDNA) | Toxin A/B Gen (tcdA/tcdB) | ICD | Ergebnis |
| positiv | positiv | positiv/negativ | Toxigener <i>C. difficile</i> -Stamm nachweisbar |
| positiv | negativ | positiv/negativ | Nicht-Toxigener <i>C. difficile</i> -Stamm nachweisbar |
| negativ | negativ | positiv | Zielgene sind nicht nachweisbar |
| negativ | negativ | negativ | Ungültig |

Ein toxigener oder nicht-toxigener *C.difficile*-Stamm ist nachweisbar, wenn die Proben-DNA und die Internal Control DNA (ICD) eine Amplifikation im Nachweissystem zeigt.

Ein toxigener oder nicht-toxigener *C.difficile*-Stamm ist ebenfalls nachweisbar, wenn die Proben-DNA eine Amplifikation, jedoch keine Amplifikation für die Internal Control DNA (ICD) im Nachweissystem zeigt. Der Nachweis der Internal Control DNA (ICD) ist in diesem Fall nicht notwendig, da hohe Konzentrationen des Amplikons zu einem schwachen oder fehlenden Signal der internen Amplifikationskontrolle führen können.

Ein toxischer oder nicht-toxischer *C.difficile*-Stamm ist nicht nachweisbar, wenn die Proben-DNA keine Amplifikation, aber die Internal Control DNA (ICD) eine Amplifikation im Nachweissystem zeigt. Eine Inhibierung der PCR-Reaktion kann durch die Detektion der Internal Control DNA (ICD) ausgeschlossen werden.

Eine Probe ist ungültig, wenn die Proben-DNA und die Internal Control DNA (ICD) im Nachweissystem keine Amplifikation zeigt. In der Probe sind PCR-Inhibitoren vorhanden bzw. es trat ein Fehler im Extraktionsverfahren auf. Die extrahierte Probe sollte 1:10 mit PCR Wasser verdünnt und erneut amplifiziert werden oder es sollte die Isolierung und Reinigung der Probe verbessert werden.

10. Testmerkmale

10.1 Analytische Sensitivität

Die RIDA[®]GENE Clostridium difficile real-time multiplex PCR hat eine Nachweisgrenze von ≤ 5 DNA-Kopien / Reaktion (s. Abb. 3, Abb. 4).

Abb.3: Verdünnungsreihe *C. difficile* ($10^5 - 10^1$ DNA Kopien / μ l) auf dem LightCycler[®] 480II

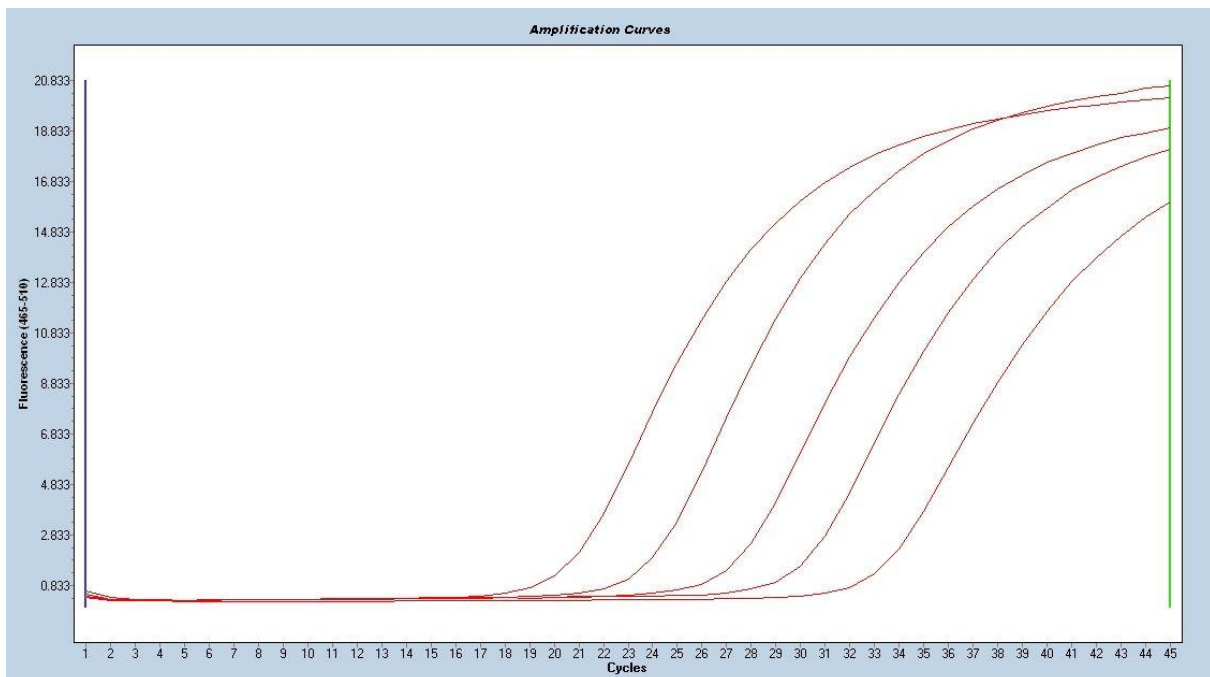
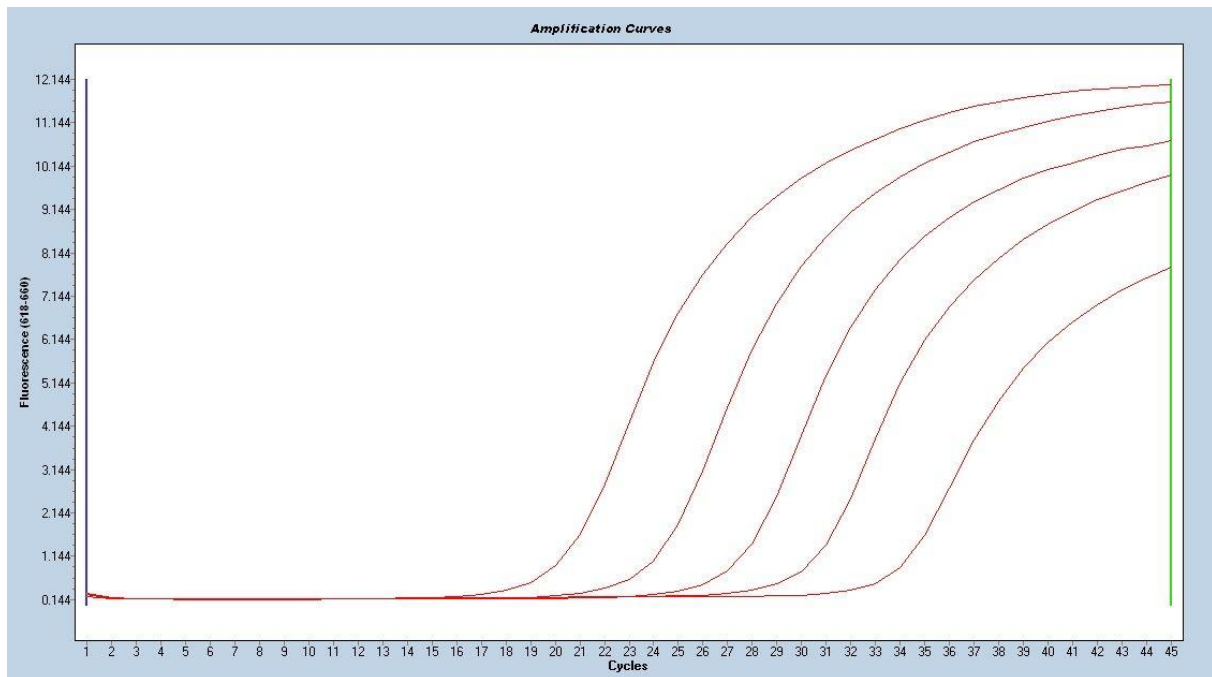


Abb.4: Verdünnungsreihe *C. difficile* Toxin-Gene ($10^5 - 10^1$ DNA Kopien / μl) auf dem LightCycler[®] 480II



Die Nachweisgrenze des Gesamtverfahrens ist abhängig von Probenmatrix, DNA-Extraktion und DNA-Gehalt.

10.2 Analytische Spezifität

Die RIDA®GENE Clostridium difficile real-time multiplex PCR ist spezifisch für *Clostridium difficile* (16s-rDNA) und die *Clostridium difficile* Toxin A und B-Gene (tcdA/tcdB) aus humanen Stuhl- und Kulturproben. Es wurden keine Kreuzreaktivitäten zu den folgenden Spezies festgestellt (s. Tab. 8):

Tab. 8: Kreuzreaktivitätstestung

| | | | | | |
|--------------------------------|---|-----------------------------------|---|-----------------------------------|---|
| <i>Arcobacter butzleri</i> | - | <i>Clostridium sordellii</i> | - | <i>Salmonella enteritidis</i> | - |
| <i>Aeromonas hydrophila</i> | - | Enteropathogene <i>E.coli</i> | - | <i>Salmonella typhimurium</i> | - |
| <i>Bacillus cereus</i> | - | Enterotoxische <i>E.coli</i> | - | <i>Serratia liquefaciens</i> | - |
| <i>Bacteroides fragilis</i> | - | Shigatoxin bildende <i>E.coli</i> | - | <i>Shigella flexneri</i> | - |
| <i>Campylobacter coli</i> | - | <i>Enterobacter cloacae</i> | - | <i>Staphylococcus aureus</i> | - |
| <i>Campylobacter jejuni</i> | - | <i>Enterococcus faecalis</i> | - | <i>Staphylococcus epidermidis</i> | - |
| <i>Candida albicans</i> | - | <i>Klebsiella oxytoca</i> | - | <i>Vibrio parahaemolyticus</i> | - |
| <i>Citrobacter freundii</i> | - | <i>Proteus vulgaris</i> | - | <i>Yersinia enterocolitica</i> | - |
| <i>Clostridium perfringens</i> | - | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | - | | |

11. Grenzen des Verfahrens

1. Das Ergebnis der molekularbiologischen Untersuchung sollte nicht allein zur Diagnose führen, sondern immer im Zusammenhang mit der Anamnese und Symptomatik des Patienten betrachtet werden.
2. Dieser Test ist nur für Stuhl- und Kulturproben validiert.
3. Unsachgemäße Probenentnahme, -transport, -lagerung und -handhabung oder eine Erregerlast unterhalb der analytischen Sensitivität des Tests können zu falsch negativen Ergebnissen führen.
4. Die Anwesenheit von PCR-Inhibitoren kann zu nicht auswertbaren Ergebnissen führen.
5. Mutationen oder Polymorphismen in den Primer- oder Sondenbindungsregion können den Nachweis neuer oder unbekannter Varianten beeinträchtigen und mit RIDA®GENE Clostridium difficile zu falsch negativen Ergebnissen führen.
6. Wie bei allen auf PCR basierenden in-vitro-diagnostischen Tests können äußerst niedrige Konzentrationen der Zielsequenzen, die unter dem Detektionslimit (LoD) liegen, nachgewiesen werden. Die erhaltenen Ergebnisse sind nicht immer reproduzierbar.
7. Ein positives Testergebnis zeigt nicht notwendigerweise die Anwesenheit lebensfähiger Organismen an. Ein positives Ergebnis deutet darauf hin, dass die *C. difficile* Zielgene (16s-rDNA, tcdA/tcdB) vorhanden sind.

12. Literatur

1. Hall IC and O'Toole E. Intestinal flora in new-born infants: with a description of a new pathogenic anaerobe Bacillus difficilis. *Am J Dis Child* 1935, 49: 390–402.
2. Bartlett JG, et al. Antibiotica-associated pseudomembranous colitis due to a toxin-producing clostridia. *N Engl J Med*, 1978; 298:531-543.
3. Bartlett JG and Gerding DN. Clinical Recognition and Diagnosis of Clostridium difficile Infection. *CID* 2008, 46: S12-18.
4. Bartlett JG. Narrative Review: The new Epidemic of Clostridium difficile-Associated Enteric Disease. *Ann Intern Med* 2006; 145:758-764.