



Epidemiologisches Bulletin

24. Juni 2013 / Nr. 26

AKTUELLE DATEN UND INFORMATIONEN ZU INFektionsKRANKHEITEN UND PUBLIC HEALTH

Aktuelles zur Epidemiologie von *Clostridium difficile*

Bericht aus dem Konsiliarlabor *C. difficile*

Einleitung

Clostridium difficile ist die häufigste Ursache für nosokomiale Durchfallerkrankungen. Darüber hinaus gewinnt *C. difficile* eine wachsende Bedeutung bei der ambulant erworbenen Diarrhö. Die Entwicklung der globalen Epidemiologie der vergangenen Jahre war geprägt durch eine Zunahme der Inzidenzdichte von *C. difficile* (besonders bei Menschen > 65 Jahre), das vermehrte Auftreten schwerer Infektionen mit hoher Morbidität und Mortalität, die epidemische Ausbreitung hypervirulenter Stämme vom Ribotyp 027 (BI/NAP1) und von hypervirulenten Stämmen zoonotischen Ursprungs mit Ribotyp 078. Zusammen mit dem epidemischen Auftreten hypervirulenter Infektionen des Ribotyps 027 in Deutschland¹ wurde im Jahr 2007 die namentliche Meldepflicht nach § 6 IfSG für den Nachweis von Ribotyp-027-Infektionen sowie für die Diagnose schwerer bzw. rekurrierender *C.-difficile*-Infektionen (CDI) eingeführt.

Die Möglichkeiten zur Typisierung von *C. difficile* sind in der Regel nur in spezialisierten Laboratorien gegeben, so dass der Nachweis und die Meldung hypervirulenter Stämme unter Routinebedingungen limitiert sind. Bislang gibt es für die Bundesrepublik nur wenige, regional z. T. diskrepante, Daten über die molekulare Epidemiologie von *C. difficile* und von Stämmen des Ribotyps 027.²⁻⁴ Seit 2011 ist das Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene des Universitätsklinikums des Saarlandes (UKS) Konsiliarlabor für *Clostridium difficile*. Aufgrund der Untersuchungen von extern eingesandten Proben können nun in Deutschland für einen Zweijahreszeitraum erste Ergebnisse über die Häufigkeit verschiedener Ribotypen in verschiedenen geografischen Regionen beschrieben werden. Bei den von externen Einsendern charakterisierten Isolaten handelt es sich in der Regel um Patientenproben mit besonderer klinischer Relevanz im Sinne schwerer, rekurrenter Infektionen und von nosokomialen Ausbrüchen. Im Vergleich wurden zeitgleich gewonnene konsekutive Isolate des UKS für den Vergleichszeitraum charakterisiert, die im Rahmen von diagnostischen Routineuntersuchungen bei Patienten mit Durchfallerkrankungen gewonnen wurden. Diese Isolate bilden das gesamte Spektrum von *C.-difficile*-Infektionen der Region ohne spezifische Restriktion ab.

Diagnostische Grundlage für die *C.-difficile*-Analytik des Konsiliarlabors ist ein erweiterter zweistufiger Diagnostikalgorithmus in Anlehnung an die internationalen Empfehlungen^{5,6} mit GDH-Screening (GDH = Glutamat-Dehydrogenase) und Bestätigungstest mit Toxin-A- und /oder -B-Nachweis. Diese Diagnostik wird ergänzt durch die toxigene anaerobe Kultur und gegebenenfalls durch PCR. Für die genotypische Typisierung von *C. difficile* stehen international verschiedene Methoden zur Verfügung, die gleichermaßen in der Lage sind, die aktuellen epidemiologisch relevanten Stämme zu identifizieren.⁷ Dabei hat sich in Europa die Nomenklatur der Ribotypisierung durchgesetzt. Aufgrund der ausgezeichneten Standardisierung und Reproduzierbarkeit wurde während des Beobachtungszeitraums die Typisierung mithilfe von *single locus sequence typing* des

Diese Woche

26/2013

Clostridium-difficile-Infektionen

Aktuelles zur Epidemiologie von *C. difficile* – Bericht aus dem Konsiliarlabor



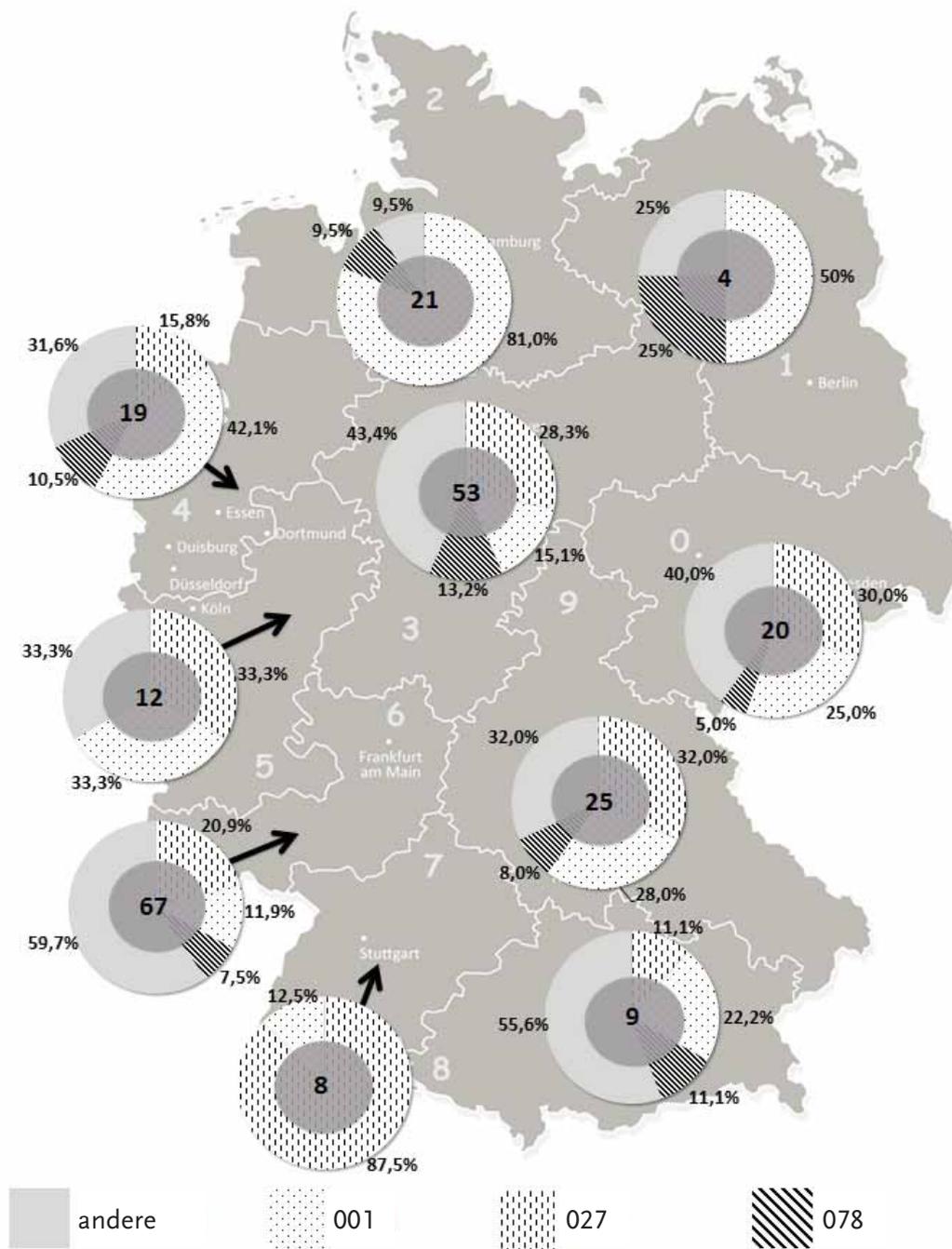


Abb. 1: Regionale Epidemiologie von *Clostridium difficile* in den Postleitzahlzonen. Dargestellt wurde die relative Häufigkeit der Ribotypen 001, 027 und 078, während die übrigen Typen kumuliert dargestellt wurden (andere). Zusätzlich dargestellt wurde die absolute Zahl der jeweils typisierten Isolate in den Regionen.

surface-layer-Protein-A-Gens (slpAST) durchgeführt.^{8,9} Seit 2013 wird am Konsiliarlabor *C. difficile* darüber hinaus auch eine über Kapillargelelektrophorese standardisierte Ribotypisierung in Kombination mit datenbankgestützter Auswertung angeboten.¹⁰ Parallel zur Genotypisierung mit slpAST erfolgte im Rahmen dieser retrospektiven Untersuchung für alle Isolate die phänotypische Resistenztestung mit Agardiffusionstest/Etest für Vancomycin und Metronidazol sowie für die Indikatorsubstanzen Clarithromycin, Moxifloxacin und Rifampicin.¹¹

In diese retrospektive Untersuchung eingeschlossen wurden alle klinikinternen Isolate des UKS sowie die externen *C. difficile*-Isolate des Konsiliarlabors der vergangenen 2 Jahre.

Ergebnisse

Insgesamt wurden 864 *C. difficile*-Isolate genotypisch und phänotypisch charakterisiert, 626 Isolate des UKS und 238 Isolate von Proben externer Einsender. Die geografische Zuordnung erfolgte über die Regionen der Postleitzahlen (s. Abb. 1). Diese geografische Einteilung eignete sich aufgrund ähnlicher Größe (17,3–47,9 Tausend km²) und Bevölkerungszahl (6,6–10,2 Millionen Einwohner) besonders gut für vergleichende epidemiologische Untersuchungen. Die 238 extern eingesandten *C. difficile*-Isolate konnten aus allen Regionen Deutschlands rekrutiert werden, jedoch mit geografischen Unterschieden in Bezug auf die Häufigkeit von Einsendungen. Die prädominanten Ribotypen in Deutschland waren 001 (26,1%), 027 (24,4%), 014/066 (8,8%) und

Relative Häufigkeit (%)

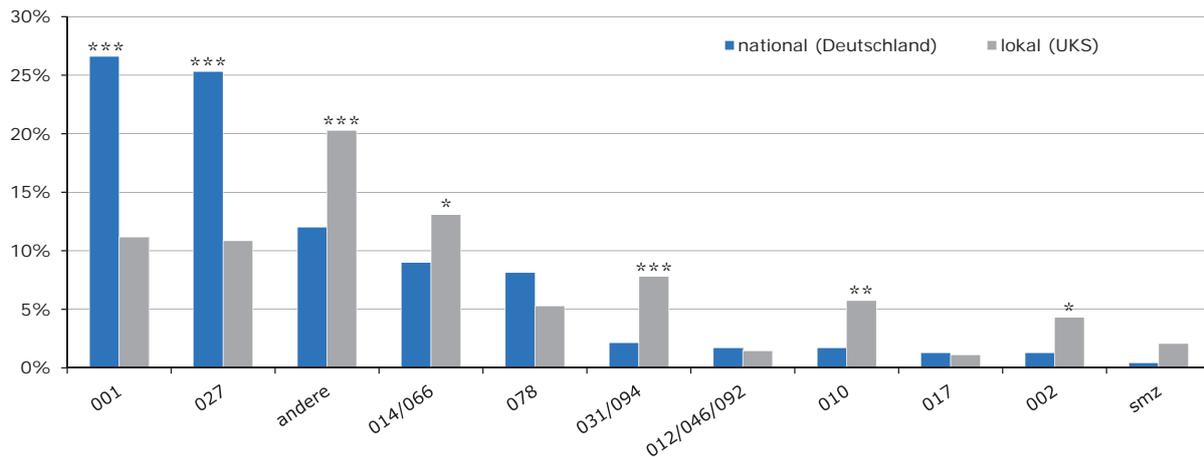


Abb. 2: Relative Häufigkeit der Ribotypen in konsekutiven lokalen Proben des Universitätsklinikums des Saarlandes (UKS) im Vergleich zu den Proben der nationalen Einsender (Deutschland). Statistische Analyse mit exaktem Fisher's Test: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,0001$

078 (8,8%). Während Ribotyp 001 und 014/066 in allen geografischen Regionen nachgewiesen werden konnten, zeigte sich ein regionaler Trend in der Häufigkeit neuer epidemischer Stämme der Ribotypen 027 und 078. Für 027 zeigte sich ein Nord-Süd-Trend mit Aussparung der Postleitzonen 1 und 2. In 6 der übrigen 8 Postleitzonen war 027 dagegen der häufigste nachgewiesene Ribotyp. 078 konnte nicht in den Postleitzonen 5 und 7 nachgewiesen werden, insgesamt war die relative Häufigkeit maximal 25%.

Zusätzlich zu den Unterschieden in der geografischen Verteilung der epidemischen Stämme zeigten sich signifikante Stammunterschiede der extern eingeschickten Proben des Konsiliarlabors im Vergleich zu den konsekutiven Isolaten des UKS (s. Abb. 2). Signifikant häufiger wurden bei den externen Einsendungen Infektionen mit 027 und 001 nachgewiesen; auch der zoonotische epidemische Ausbruchstamm 078 wurde häufiger in den externen Einsendungen nachgewiesen, jedoch erreichte der Unterschied nicht das Signifikanzniveau. Bei den Routineproben des UKS waren dagegen vermehrt die Typen 002, 010, 031/094, 014/066 bzw. nichtepidemische Ribotypen (andere) nachweisbar. Diese Stämme sind im Gegensatz zu den bekannten multiresistenten Epidemiestämmen 001, 027 und 078 in der Regel sensibel gegenüber Fluoroquinolonen (Moxifloxacin) und Makroliden (Clarithromycin) und können damit einfach von den nosokomialen Epidemiestämmen abgegrenzt werden. Alle Isolate, einschließlich der epidemischen Stämme, wurden sensibel für Metronidazol und Vancomycin getestet. Resistenzen gegen Rifampicin wurden bei 027-Stämmen (13%) und am häufigsten bei 017-Stämmen nachgewiesen (60%), während die übrigen Ribotypen meist Rifampicin-sensibel getestet wurden.

Diskussion

Die Daten des Konsiliarlabors *C. difficile* geben erstmals einen Überblick über geografische Unterschiede der prädominanten *C. difficile*-Stämme in verschiedenen nationalen Regionen. Während bei der Diagnostik von *C. difficile*-Infektionen den Schnelltests (Antigentests und NAAT) aus klinischer Sicht eine besondere Bedeutung zukommt, ist

die anaerobe toxische Kultur weiterhin Goldstandard für den Erregernachweis und obligat für die Antibiotika-Resistenztestung und die Charakterisierung der molekularen Epidemiologie (Genotypisierung). Die Untersuchungen zur molekularen Epidemiologie sind Grundlage für lokale, regionale, nationale und globale Surveillance- bzw. Ausbruchuntersuchungen mit dem Ziel, Ausbreitungsmuster epidemisch erfolgreicher bzw. besonders virulente Stämme frühzeitig zu erkennen und wenn möglich zu unterbinden.

In dieser retrospektiven Analyse konnte erstmals gezeigt werden, dass hypervirulente Stämme vom Ribotyp 027 mit Ausnahme des Nordens im gesamten Bundesgebiet nachgewiesen werden können. Zusammen mit 001 ist 027 der häufigste Epidemiestamm in Deutschland, während 078 nur mit geringer Häufigkeit in den meisten Regionen nachgewiesen werden kann. Durch den Vergleich von konsekutiven Routine-Isolaten mit den besonders relevanten Infektionen der externen Einsender konnte indirekt gezeigt werden, dass den nosokomialen Epidemiestämmen 001, 027 und evtl. auch 078 eine klinisch besondere Bedeutung zukommt, die in prospektiven Untersuchungen weiter geklärt werden muss. Während Mutationen im potenziellen Toxin-Repressor-Gen *tcdC* eine besondere Virulenz für 027 und 078 nahelegen,⁹ ist die Ursache für die besondere epidemische Bedeutung und für die Virulenz von 001 bislang nicht geklärt. Gemeinsam ist allen epidemischen nosokomialen Stämmen eine Multiresistenz gegen häufig eingesetzte Antibiotikagruppen.¹¹ Als Indikatortestsubstanzen für diese nosokomialen Epidemiestämme werden häufig Moxifloxacin und Clarithromycin getestet. Eine weitere Differenzierung auf Ribotypenebene für epidemiologische Untersuchungen erfordert jedoch immer eine Genotypisierung.

Vancomycin und Metronidazol werden bei allen Stämmen empfindlich getestet, so dass die empirische Therapie bei unkomplizierten CDI auch ohne vorherige Resistenztestung durchgeführt werden kann. Antibiotikaresistenztestungen sollten aber bei Einsatz von Reserveantibiotika wie z. B. Rifaximin oder bei komplizierten, therapierefraktären Verläufen angestrebt werden.

Limitationen dieser retrospektiven Untersuchung sind bei externen Einsendungen sicherlich der Selektionsbias für klinisch besonders relevante Infektionen und die begrenzte Anzahl an Proben aufgrund der ausschließlich freiwilligen Einsendung. Aus diesem Grunde ist das regionale Spektrum der verschiedenen Ribotypen im Gegensatz zu den konsekutiven Proben des UKS sicherlich nicht repräsentativ. Durch eine obligate Geno- und Phänotypisierung schwerer und rekurrenter CDI wäre es sofort möglich, die klinisch besonders relevanten Infektionsgeschehen lokal und überregional zu charakterisieren und die Daten an die betroffenen Kliniken und die Stellen des Öffentlichen Gesundheitswesens für interne Optimierungsstrategien zurückzuspiegeln. Gleichzeitig könnte mit vertretbarem Aufwand (ca. 800 schwere/rekurrente Fälle entsprechend Meldung nach §6 IfSG) eine umfassende Infektions-surveillance von *C. difficile* geschaffen werden.

Durch diese aktuelle retrospektive Analyse wird klar, dass die schweren und komplizierten *C. difficile*-Infektionen durch wenige Ribotypen dominiert werden, die aufgrund ihres epidemischen Ausbreitungspotenzials und ihres Selektionsvorteils durch Multiresistenz gegen Antibiotika das Spektrum der Infektionen besonders in Krankenhäusern dominieren. Die molekulare Typisierung von *C. difficile* liefert wichtige Informationen zur lokalen, nationalen und globalen Dynamik dieser häufigen und klinisch bedeutsamen nosokomialen Infektion.

Literatur

1. Zaiss NH, Weile J, Ackermann G, Kuijper E, Witte W, Nuebel U: A case of *Clostridium difficile*-associated disease due to the highly virulent clone of *Clostridium difficile* PCR ribotype 027, March 2007 in Germany. *Eurosurveillance* 2007; 12(11): E071115 071111
2. Reil M, Erhard M, Kuijper EJ, Kist M, Zaiss H, Witte W, Gruber H, Borgmann S: Recognition of *Clostridium difficile* PCR-ribotypes 001, 027 and 126/078 using an extended MALDI-TOF MS system. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2011; 30(11): 1431–1436
3. Arvand M, Moser V, Schwehn C, Bettge-Weller G, Hensgens MP, Kuijper EJ: High prevalence of *Clostridium difficile* colonization among nursing home residents in Hesse, Germany. *PLoS one* 2012; 7(1): e30183
4. Claußen K, Scharlach M, Pulz M: Zum Vorkommen von *Clostridium difficile* in zwei Regionen Niedersachsens. *Epid Bull* 2011; 40: 363–366
5. Crobach MJ, Dekkers OM, Wilcox MH, Kuijper EJ: European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): data review and recommendations for diagnosing *Clostridium difficile*-infection (CDI). *Clin Microbiol Infect* 2009; 15(12): 1053–1066
6. Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, Kelly CP, Loo VG, McDonald LC, Pepin J, Wilcox MH: Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults: 2010 update by the society for healthcare epidemiology of America (SHEA) and the infectious diseases society of America (IDSA). *Infect Control Hosp Epidemiol* 2010; 31(5): 431–455
7. Killgore G, Thompson A, Johnson S, Brazier J, Kuijper E, Pepin J, Frost EH, Savelkoul P, Nicholson B, van den Berg RJ et al.: Comparison of seven techniques for typing international epidemic strains of *Clostridium difficile*: restriction endonuclease analysis, pulsed-field gel electrophoresis, PCR-ribotyping, multilocus sequence typing, multilocus variable-number tandem-repeat analysis, amplified fragment length polymorphism, and surface layer protein A gene sequence typing. *J Clin Microbiol* 2008; 46(2): 431–437
8. Kato H, Yokoyama T, Arakawa Y: Typing by sequencing the *slpA* gene of *Clostridium difficile* strains causing multiple outbreaks in Japan. *Journal of Medical Microbiology* 2005; 54(Pt 2): 167–171
9. Joost I, Speck K, Herrmann M, von Müller L: Characterisation of *Clostridium difficile* isolates by *slpA* and *tdcC* gene sequencing. *Intern J Antimicrob Agents* 2009; 33 Suppl 1: S13–18
10. Indra A, Huhulescu S, Schneeweis M, Hasenberger P, Kernbichler S, Fiedler A, Wewalka G, Allerberger F, Kuijper EJ: Characterization of *Clostridium difficile* isolates using capillary gel electrophoresis-based PCR ribotyping. *J Med Microbiol* 2008; 57(Pt 11): 1377–1382
11. von Müller L, Halfmann A, Herrmann M: Current data and trends on the development of antibiotic resistance of *Clostridium difficile*. *Bundesgesundheitsbl – Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz* 2012; 55(11–12): 1410–1417

Danksagung: Danken möchten wir allen Einsendern des Konsiliarlabors *C. difficile* und dem Robert Koch-Institut für die Unterstützung.

Für diesen Beitrag danken wir Markus Mock, Dr. Alexander Halfmann, Prof. Dr. Mathias Herrmann und PD Dr. Lutz von Müller, Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene, Konsiliarlabor *Clostridium difficile*, Staatliche Medizinaluntersuchungsstelle des Saarlandes, Universitätsklinikum des Saarlandes. **Ansprechpartner** ist PD Dr. Lutz von Müller (E-Mail: lutz.mueller@uks.eu).

Hinweis der Redaktion: Die „Aktuelle Statistik meldepflichtiger Infektionskrankheiten, Deutschland, 23. Woche 2013 (Datenstand: 26.6.2013)“ wird am 1.7.2013 auf der Homepage des Robert Koch-Instituts veröffentlicht (www.rki.de > Infektionsschutz > Epidemiologisches Bulletin).

Impressum

Herausgeber

Robert Koch-Institut
Nordufer 20, 13353 Berlin
Tel.: 030.18754-0
Fax: 030.18754-2328
E-Mail: EpiBull@rki.de

Das Robert Koch-Institut ist ein Bundesinstitut im Geschäftsbereich des Bundesministeriums für Gesundheit.

Redaktion

► Dr. med. Jamela Seedat (v. i. S. d. P.)
Tel.: 030.18754-2324
E-Mail: Seedatj@rki.de
► Dr. med. Ulrich Marcus (Vertretung)
E-Mail: MarcusU@rki.de
► Redaktionsassistent: Sylvia Fehrmann
Claudia Paape, Judith Petschelt (Vertretung)
Tel.: 030.18754-2455, Fax: -2459
E-Mail: FehrmannS@rki.de

Vertrieb und Abonentenservice

E.M.D. GmbH
European Magazine Distribution
Birkenstraße 67, 10559 Berlin
Tel.: 030.33099823, Fax: 030.33099825
E-Mail: EpiBull@emd-germany.de

Das Epidemiologische Bulletin

gewährleistet im Rahmen des infektionsepidemiologischen Netzwerks einen raschen Informationsaustausch zwischen den verschiedenen Akteuren – den Ärzten in Praxen, Kliniken, Laboratorien, Beratungsstellen und Einrichtungen des öffentlichen Gesundheitsdienstes sowie den medizinischen Fachgesellschaften, Nationalen Referenzzentren und den Stätten der Forschung und Lehre – und dient damit der Optimierung der Prävention. Herausgeber und Redaktion erbitten eine aktive Unterstützung durch die Übermittlung allgemein interessierender Mitteilungen, Analysen und Fallberichte. Das Einverständnis mit einer redaktionellen Überarbeitung wird vorausgesetzt.

Das *Epidemiologische Bulletin* erscheint in der Regel wöchentlich (50 Ausgaben pro Jahr). Es kann im Jahresabonnement für einen Unkostenbeitrag von € 49,- ab Beginn des Kalenderjahres bezogen werden; bei Bestellung nach Jahresbeginn errechnet sich der Beitrag mit € 4,- je Bezugsmonat. Ohne Kündigung bis Ende November verlängert sich das Abonnement um ein Jahr.

Die Ausgaben ab 1997 stehen im **Internet** zur Verfügung: www.rki.de > Infektionsschutz > Epidemiologisches Bulletin.

Druck

Brandenburgische Universitätsdruckerei und Verlagsgesellschaft Potsdam mbH

Nachdruck

mit Quellenangabe gestattet, jedoch nicht zu werblichen Zwecken. Belegexemplar erbeten. Die Weitergabe in elektronischer Form bedarf der Zustimmung der Redaktion.

ISSN 1430-0265 (Druck)
PVKZ A-14273