

Typisierung von *Clostridioides difficile* im Nationalen Referenzzentrum

Mit der dynamischen Entwicklung von molekular-genetischen Methoden hat sich in den vergangenen Jahrzehnten auch die Genotypisierung von Bakterien verändert. Ausgehend von bandenbasierten Methoden (z. B. Pulsfeld-Gelelektrophorese; PFGE) entwickelten sich sequenzbasierte Methoden von Single-locus Sequence Typing (SLST) über Multiple-locus Sequence Typing (MLST) bis zur Ganzgenomsequenzierung (WGS). Mit letzterer konnten anders als bei früheren Typisierungsmethoden erstmals nicht nur Unterschiede zwischen Stämmen, sondern auch genetische Verwandtschaften analysiert werden. Für die Genotypisierung von *Clostridioides (C.) difficile* wurden in den 2000er-Jahren verschiedene Typisierungsmethoden nahezu gleichberechtigt eingesetzt, die alle unterschiedliche Möglichkeiten haben, Stämme zu differenzieren und mit unterschiedlichen Nomenklaturen arbeiten: PFGE, das SLST (Surface-layer protein A, SlpA), MLST, Multiple-locus Variable Number of Tandem Repeats (MLVA) und die PCR-Ribotypisierung. International setzte sich die Ribotypisierung als Standardmethode durch, da sie besonders gut geeignet war, die häufigsten Stämme einschließlich des neuen hypervirulenten Ausbruchsstamms Ribotyp 027 (PFGE Muster NAP-1) zu identifizieren. Als einfache, bandenbasierte Methode kann aber mit der PCR-Ribotypisierung keine Verwandtschaft zwischen Stämmen berechnet werden und auch die Benennung und das Erkennen neuer Ribotypen ist nur eingeschränkt möglich.

Mit der rasanten Entwicklung neuer Sequenziermethoden wurde in den vergangenen Jahren die WGS für die Genotypisierung in der gesamten Bakteriologie zum Goldstandard. Sie erlaubt die Einteilung in Verwandtschaftsbäume mit Claden, Sequenztypen (ST), cgMLST (cg = core genome) sowie die Charakterisierung einzelner Gene (Resistenzgene, Virulenzgene, etc.). Außerdem erlauben die sequenzbasierten Methoden den einfachen Austausch von Sequenzen als Basis für eine international einheitliche Nomenklatur, die die Nomenklatur der bandenbasierten Methoden einschließlich der Ribotypen

ablösen. Für eine gewisse Übergangszeit wird es jedoch für die Verständigung hilfreich sein, wenn zusätzlich zu ST und cgMLST auch Ribotyp-Analoga aus den Genomsequenzen abgeleitet werden. Die meisten Ribotypen können aus WGS abgeleitet werden, sodass die Ribotypisierung als Methode entbehrlich geworden ist. Nicht immer kann aber ein ST/cgMLST genau einem Ribotyp zugeordnet werden, was an der fehlenden verwandtschaftlichen Auflösung der „alten“ Ribotypisierung liegt. So gehört eine Gruppe von Ribotyp 027 Isolaten zum ST1, eine zweite zum ST417 – ohne direkte Verwandtschaft. Diese neue internationale Nomenklatur ist naturgemäß anders als die einfache Nomenklatur der Ribotypen. Die WGS ist allen anderen genetischen Typisierungsmethoden überlegen und basiert anders als die bandenbasierten Methoden auf einer verwandtschaftsbezogenen Nomenklatur.

Das Nationale Referenzzentrum (NRZ) *C. difficile* hat längere Zeit parallel Erfahrungen mit Ribotypisierung und WGS gesammelt und die Überlegenheit der WGS einerseits und die Möglichkeit der Berechnung von Ribotyp-Analoga aus den Ganzgenomdaten gezeigt. Seit Januar 2024 erfolgt die Typisierung ausschließlich mittels WGS und nicht mehr durch die klassische Ribotypisierung. Die Befunde erlauben die Zuordnung von verwandtschaftsbezogenen ST/cgMLST zu berechneten Ribotyp-Analoga, mit denen der Bezug zum bisherigen Schrifttum hergestellt werden kann, und darüber hinaus die Charakterisierung von Virulenz- und Resistenzgenen (genotypische Resistenztestung).

Das NRZ möchte damit den Bezug zur mittlerweile fast historischen Ribotyp-Nomenklatur anbieten und gleichzeitig die moderne Sequenzcharakterisierung mit ihren vielfältigen neuen Anwendungen pflegen und weiterentwickeln.

Diese Technik erlaubt – im Gegensatz zur Ribotypisierung – nicht nur die Einordnung von Erregerisolaten in die (inter)nationale Epidemiologie, son-

dern ermöglicht mit einer hohen Auflösung auch die Beantwortung der Frage, ob sich bestimmte Erreger(klone) ausbreiten und Ausbrüche und schwere Erkrankungen verursachen. Zudem ist die Reproduzierbarkeit der WGS deutlich höher, sodass die Ribotypisierung zukünftig vollständig ersetzt wird. Aus historischen Gründen und weil sich die technische Weiterentwicklung in Richtung der WGS noch nicht international gleichermaßen durchgesetzt hat, wird die Ribotypisierung noch vielfach

eingesetzt. Damit eine Rückwärtskompatibilität mit der Ribotypisierung möglich ist, hält das NRZ für ausgewählte Fälle noch die Ribotypisierung zur Verfügung.

Das NRZ bittet weiterhin um die Einsendung von Isolaten oder Stuhlproben, insbesondere bei Ausbrüchen oder meldepflichtigen schweren *C. difficile*-Fällen. Stuhlproben können auch nach Beginn einer Therapie entnommen und eingesandt werden.

Autorinnen und Autoren

Nationales Referenzzentrum für *C. difficile*:

^{a)} Prof. Dr. Barbara Gärtner | ^{b)} Prof. Dr. Lutz von Müller |

^{a)} Prof. Dr. Markus Bischoff | ^{a)} Dr. Ahmed Abdrabou |

^{c)} Dr. Julia Schneider | ^{c)} Prof. Dr. Alexander Mellmann

^{a)} Institut für Mikrobiologie und Hygiene, Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg Saar

^{b)} Christophorus-Kliniken Coesfeld

^{c)} Institut für Hygiene, Universität Münster

Korrespondenz: c.difficile@uks.eu

Vorgeschlagene Zitierweise

Gärtner B, von Müller L, Bischoff M, Abdrabou A, Schneider J, Mellmann A: Typisierung von *Clostridioides difficile* im Nationalen Referenzzentrum

Epid Bull 2025;16:17-18 | DOI 10.25646/13060

Informationen sind auch unter <https://www.uks.eu/kliniken-einrichtungen/infektionskrankheiten/krankenhaushygiene/nationales-referenzzentrum-fuer-clostridioides-clostridium-difficile> zuvor veröffentlicht worden.

Interessenkonflikt

Die Autorinnen und Autoren geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.