



Epidemiologisches Bulletin

9. März 2017 / Nr. 10

AKTUELLE DATEN UND INFORMATIONEN ZU INFektionsKRANKHEITEN UND PUBLIC HEALTH

Auftreten von *Clostridium difficile* Ribotyp 176 in Deutschland

Einleitung

Clostridium difficile (seit 2013 neuer taxonomischer Name: *Peptoclostridium difficile*)¹ ist ein grampositives Stäbchenbakterium mit der Fähigkeit zur Sporulation, das vor allem Durchfallerkrankungen, mit teils schwerwiegenden Krankheitsbildern, wie dem toxischen Megakolon, verursacht. Die Erkrankung tritt meist nach stattgehabter Antibiotikagabe (v. a. Fluorochinolone, Amoxicillin/Clavulansäure, Cephalosporine und Clindamycin) auf, bei dem *Clostridium difficile* (*C. difficile*) durch die gestörte Darmflora in seinem Wachstum nicht mehr ausreichend gehemmt wird.

Clostridium-difficile-Isolate weisen eine sehr große genetische Heterogenität auf. Dies kann sowohl mit einer erhöhten Virulenz einhergehen, als auch mit der Fähigkeit Ausbrüche zu verursachen. Klassischerweise ist der Ribotyp 027 (RT027) für viele der schweren Verläufe und Ausbruchsgeschehen in Europa und Nordamerika, aber auch anderen Teilen der Welt, verantwortlich. Weitere epidemiologisch bedeutsame und/oder mit erhöhter Pathogenität in Verbindung stehende RTs sind RT001,² RT015,³ RT017,² RT018,⁴ RT046,⁵ RT078,⁶ RT106,⁷ RT176⁸ sowie RT244.⁹

Die Epidemiologie von *C. difficile* ist weltweit und auch in Deutschland in stetigem Wandel. Ausbruchsstämme können hier neu entstehen oder nach Deutschland importiert werden und sich dann möglicherweise verbreiten. Ein Stamm, dem in Zukunft auch hierzulande eine größere Relevanz zukommen könnte, ist der RT176. Dieser Ribotyp bildet wie die Mehrheit der klinischen *C. difficile*-Stämme Toxin A (*tcdA*, Enterotoxin) und B (*tcdB*, Zytotoxin). Zusätzlich zeichnen sich RT176-Stämme durch das Vorhandensein der Gene zur binären Toxinbildung (*cdtA*, *cdtB*) aus. Binäres Toxin führt über Aktindepolymerisation zum Zelltod und einer verstärkten bakteriellen Adhärenz.¹⁰ Eine binäre Toxinbildung ist auch bei „hypervirulenten“ Stämmen wie dem RT027 und RT078 zu finden. Beobachtungen aus den Nachbarländern Polen und der Tschechischen Republik, in denen RT176-Isolate bereits weit verbreitet sind,^{11,12} weisen zudem darauf hin, dass sich Isolate dieses RTs auch durch eine hohe Transmissions-tendenz mit der Fähigkeit einer schnellen Verbreitung innerhalb eines Krankenhauses,¹¹ einer erhöhten Pathogenität sowie einem weitreichenden Resistenzmuster gegenüber Flourochinolonen, Makroliden und Rifampicin ähnlich zu dem der RT027-Isolate, auszeichnen.¹² Durch seine enge genetische Verwandtschaft mit dem RT027 sind RT176-Isolate mit etablierten und weitreichend genutzten molekulargenetischen Methoden wie dem *Multi Locus Sequence Typing* (MLST) oder anderen Verfahren, die z. B. neben *tcdB* und *cdtB* die Deletion in Position 117 des Regulator-Gens *tcdC* eines klassischen RT027 nachweisen,¹³ nicht zu unterscheiden. Mit der europäischen Standardmethode, der Ribotypisierung ist das erzeugte Bandenmuster einem RT027 ebenfalls sehr ähnlich,¹⁴ aber in der Regel ausreichend unterscheidbar. Seit November 2013 konnten von uns erstmals in Deutschland RT176-Stämme isoliert werden. Insgesamt konnten wir diesen Ribotyp bereits bei 30 Patientenproben (29 Isolate von externen Einsendern und ein Isolat unseres Klinikums), detektieren.

Diese Woche 10/2017

[Auftreten von *Clostridium difficile* Ribotyp 176 in Deutschland](#)

[Aktuelle Statistik meldepflichtiger Infektionskrankheiten 7. Woche 2017](#)

[Zur Situation von Influenza-Erkrankungen für die 9. Kalenderwoche 2017](#)



Ergebnisse

Nach erfolgter Anzucht unter anaeroben Bedingungen wurde bei allen 30 *C. difficile*-Isolaten eine Ribotypisierung und bei 19 (63,3%) Stämmen zusätzlich eine Resistenztestung, wie an anderer Stelle beschrieben,^{15,16} durchgeführt (s. Tab. 1).

Antibiotikum	Anteil resistenter Isolate	Bereich minimale Hemmkonzentration (MHK)
Metronidazol	0/19 (0%)	0,38–2,0 mg/l
Vancomycin	0/19 (0%)	0,125–1,0 mg/l
Moxifloxacin	18/19 (94,7%)	2,0–32,0 mg/l
Rifampicin*	3/19 (15,8%)	–
Clarithromycin*	16/19 (84,2%)	–

Tab. 1: Resistenzverhalten getesteter RT176-Isolate, n = 19 (11/2013–9/2016)

* für Rifampicin und Clarithromycin erfolgte eine Messung mittels Agar-diffusion, sodass keine Konzentrationen angegeben werden können

Die Mehrzahl der RT176-Stämme stammt aus den Bundesländern Nordrhein-Westfalen und Bayern (s. Abb. 1). Das Verbreitungsmuster zeigt aber bisher keine spezifische regionale Verteilung.

Zur Darstellung der Verwandtschaftsbeziehungen wurden die Isolate einer „Multiple locus-variant tandem-repeat analysis“ (MLVA) unterzogen.¹⁷ Mittels dieses Verfahrens können Stämme auf ihre Verwandtschaftsverhältnisse hin untersucht werden. Bei *C. difficile*-Isolaten werden mit dieser Methode an sieben unterschiedlichen Regionen des Genoms die Anzahl an bestimmten DNA-Wiederholungen (*Repeats*) gemessen. Ein klonaler Stamm ist definiert als ein Unterschied in bis zu zwei genetischen *Repeats*, während bei einer Verwandtschaft dieser bis zu zehn betragen kann.

Nach MLVA-Untersuchung der 30 Isolate zeigten sich vier Cluster von insgesamt 15 miteinander verwandten Stämmen (s. Abb. 2, S. 93). Das größte Cluster besteht aus

sechs Isolaten, die in der Region Franken, in Würzburg (BY-1-WÜ, BY-2-WÜ), Schweinfurt (BY-3-SW bis BY-5-SW) und Heilbronn (BW-1-HN) isoliert wurden. Darüber hinaus zeigt sich ein klonaler Komplex zwischen dem Isolat aus Heilbronn (BW-1-HN) und Schweinfurt (BY-3-SW; Entfernung > 150 km). Das zweite Cluster besteht aus vier Isolaten aus Nordrhein-Westfalen (NRW) und einem Isolat aus Berlin (BE-1-B, NRW-1-BO, NRW-2-MG, NRW-3-MI, NRW-4-D).

Weitere Cluster bestehen aus zwei Isolaten aus Kempten (BY-6-KE und BY-7-KE) und zwei Isolaten aus Berlin (BE-1-B) und Sachsen-Anhalt (ST-1-MD). Klinische Daten zu den externen Einsendungen sind leider nicht verfügbar. Es sind aber in aller Regel stationäre Patienten.

Diskussion

Der RT176 wurde von unserem Labor im Jahr 2013 in Deutschland erstmals isoliert. Bisher ist das Auftreten noch von sporadischer Natur, allerdings könnten die regionalen Cluster verwandter Stämme darauf hindeuten, dass sich dieser RT bereits in einzelnen Regionen Deutschlands etabliert haben könnte.

Durch den Umstand, dass sich RT176 sehr schwer von einem RT027 unterscheiden lässt, könnte er von vielen Laboren falsch klassifiziert worden sein. Dies könnte eine Erklärung dafür sein, warum er bisher in Deutschland noch nicht verstärkt detektiert werden konnte und womöglich bereits vor dem Jahr 2013 nach Deutschland eingebracht wurde.

Daher sollten besonders bei Ausbruchsuntersuchungen, darauf geachtet werden, dass die genutzten Typisierungsverfahren (Ribotypisierung) in der Lage sind, RT176 von RT027 korrekt zu unterscheiden. In anderen, an Deutschland angrenzenden Staaten mit Ausnahme von Polen und Tschechien, liegen derzeit keine gehäuften Berichte über das Auftreten von RT176 vor.

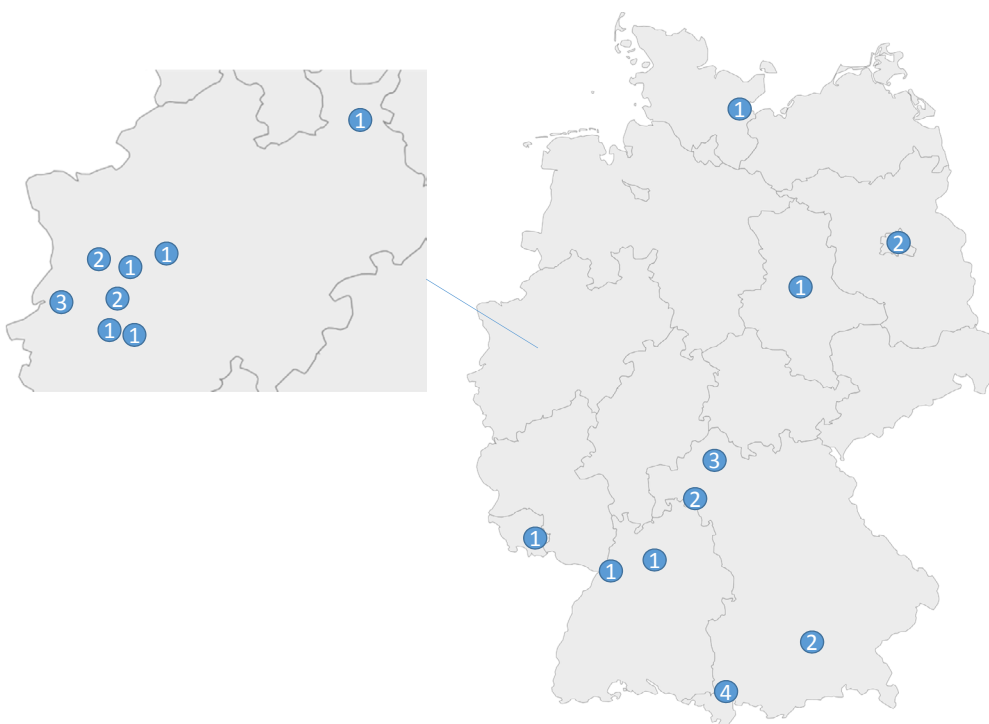


Abb. 1: Geografische Verteilung von RT176-Isolaten; Zahlen in den Kreisen entsprechen Anzahl an Patienten, n = 30 (11/2013–9/2016)

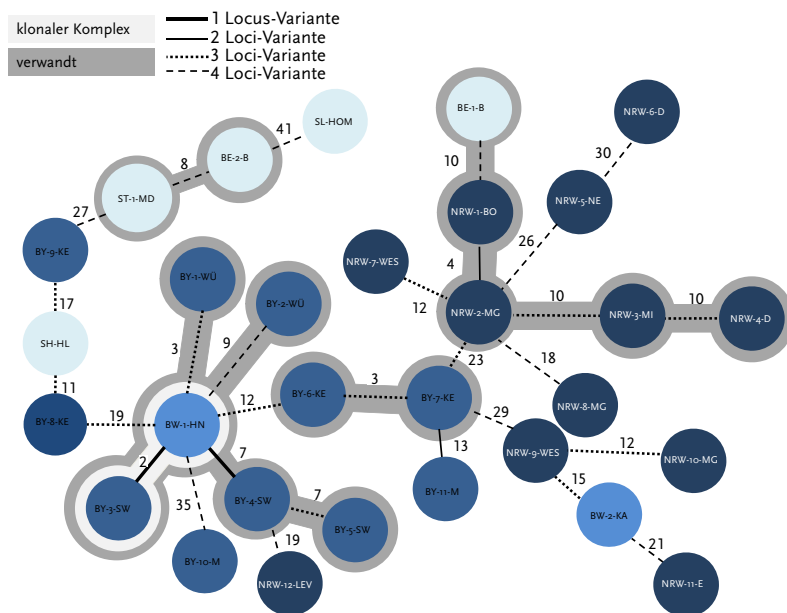


Abb. 2: Verwandtschaftsbeziehungen von RT176-Isolaten; Isolate entsprechend der Herkunft in verschiedenen Blautönen; Bayern (BY), Baden-Württemberg (BW), Nordrhein-Westfalen (NRW), Saarland (SL), Schleswig-Holstein (SH), Berlin (BE), Sachsen-Anhalt (ST), weitere Bezeichnung entsprechend Autokennzeichen der Landkreise; Verbindungsstriche entsprechend sich unterscheidender Gen-Loci; arabische Zahlen, unterschiedliche DNA-Repeats; verwandte Isolate in Dunkelgrau, klonale Komplexe in Hellgrau

Die hier untersuchten RT176-Isolate weisen eine hohe Resistenz gegenüber Fluorochinolonen (Moxifloxacin) und Makroliden (Clarithromycin) auf, wie sie auch bei RT027-Isolaten zu finden sind. Dies unterstreicht die Wichtigkeit eines restriktiven Antibiotikaverbrauchs, da dies für *C. difficile* sowohl einen Selektionsfaktor als auch den Hauptauslöser der Erkrankung darstellt. Überraschenderweise konnte jedoch nur bei 15,8% der hier untersuchten RT176-Stämme phänotypisch eine Resistenz gegenüber Rifampicin beobachtet werden, während in Tschechien (mit etwa 65% und 90%) wesentlich mehr RT176-Stämme als resistent gegen Rifampicin beschrieben wurden.^{11,12} Resistenzen gegenüber zur Therapie eingesetzten Antibiotika wie Metronidazol und Vancomycin fanden sich nicht.

Durch den Umstand, dass RT176 bereits in Deutschland nachgewiesen werden kann, könnte es in Zukunft zu Ausbrüchen, einer erhöhten Inzidenz an *Clostridium difficile*-Infektionen oder sogar einem *Replacement* von bereits etablierten RTs kommen.

Literatur

- Yutin N, Galperin MY: A genomic update on clostridial phylogeny: Gram-negative spore formers and other misplaced clostridia. *Environ Microbiol* 2013;15(10):2631–2641
- Arvand M, Hauri AM, Zaiss NH, et al.: *Clostridium difficile* ribotypes 001, 017, and 027 are associated with lethal *C. difficile* infection in Hesse, Germany. *Euro Surveill* 2009, 14(45).
- Bauer MP, Notermans DW, van Benthem BH, et al.: *Clostridium difficile* infection in Europe: a hospital-based survey. *Lancet* 2011;377(9759):63–73
- Baldan R, Trovato A, Bianchini V, et al.: *Clostridium difficile* PCR ribotype 018, a successful epidemic genotype. *J Clin Microbiol* 2015;53(8):2575–2580
- Obuch-Woszczatynski P, Dubiel G, Harmanus C, et al.: Emergence of *Clostridium difficile* infection in tuberculosis patients due to a highly rifampicin-resistant PCR ribotype 046 clone in Poland. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2013;32(8):1027–1030
- Goorhuis A, Bakker D, Corver J, et al.: Emergence of *Clostridium difficile* infection due to a new hypervirulent strain, polymerase chain reaction ribotype 078. *Clin Infect Dis* 2008;47(9):1162–1170
- Ratnayake L, McEwen J, Henderson N, et al.: Control of an outbreak of diarrhoea in a vascular surgery unit caused by a high-level clindamycin-resistant *Clostridium difficile* PCR ribotype 106. *J Hosp Infect* 2011;79(3):242–247
- Nyc O, Pituch H, Matejkova J, et al.: *Clostridium difficile* PCR ribotype 176 in the Czech Republic and Poland. *Lancet* 2011;377(9775):1407
- Lim SK, Stuart RL, Mackin KE, et al.: Emergence of a ribotype 244 strain of *Clostridium difficile* associated with severe disease and related to the epidemic ribotype 027 strain. *Clin Infect Dis* 2014;58(12):1723–1730
- Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, et al.: *Clostridium difficile* binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. *Gut Microbes* 2014;5(1):15–27
- Polivkova S, Krutova M, Petrlova K, et al.: *Clostridium difficile* ribotype 176 – A predictor for high mortality and risk of nosocomial spread? *Anaerobe* 2016;40:35–40
- Krutova M, Matejkova J, Tkadlec J, et al.: Antibiotic profiling of *Clostridium difficile* ribotype 176 – A multidrug resistant relative to *C. difficile* ribotype 027. *Anaerobe* 2015;36:88–90
- Krutova M, Matejkova J, Nyc O: *C. difficile* ribotype 027 or 176? *Folia Microbiol (Praha)* 2014;59(6):523–526
- Valiente E, Dawson LF, Cairns MD, et al.: Emergence of new PCR ribotypes from the hypervirulent *Clostridium difficile* 027 lineage. *J Med Microbiol* 2012;61(Pt 1):49–56
- Indra A, Schmid D, Huhulescu S, et al.: Characterization of clinical *Clostridium difficile* isolates by PCR ribotyping and detection of toxin genes in Austria, 2006–2007. *J Med Microbiol* 2008;57(Pt 6):702–708
- von Müller L, Halfmann A, Herrmann M: Aktuelle Daten und Trends zur Antibiotikaresistenzentwicklung von *Clostridium difficile*. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 2012;55(11–12):1410–1417
- van den Berg RJ, Schaap I, Templeton KE, et al.: Typing and subtyping of *Clostridium difficile* isolates by using multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis. *J Clin Microbiol* 2007;45(3):1024–1028

■ Dr. Fabian Berger, Prof. Markus Bischoff, Christian Strauß, Prof. Lutz von Müller und Prof. Barbara Gärtner
Universitätsklinikum des Saarlandes und Medizinische Fakultät der Universität des Saarlandes
Korrespondenz: Fabian.Berger@uks.eu

■ Vorgeschlagene Zitierweise:
Berger F, Bischoff M, Strauß C, von Müller L, Gärtner B: Auftreten von *Clostridium difficile* Ribotyp 176 in Deutschland
Epid Bull 2017;10:93–95

DOI 10.17886/EpiBull-2017-010