

Nationale Referenzzentrale für *Clostridium difficile*

Jahresbericht 2010

Österreichische Agentur für Gesundheit
und Ernährungssicherheit
Institut für medizinische Mikrobiologie und Hygiene
A-1096 Wien, Währingerstr. 25a, Postfach 91
Tel. +43 (0)50 555 37111
Fax +43 (0)50 555 37109
E-Mail: humanmed.wien@ages.at

Ansprechperson:

Dr. Alexander Indra
Dr. Steliana Huhulescu

Zusammenfassung

Im Jahr 2010 wurden in Österreich von der Referenzzentrale der AGES 495 *Clostridium difficile* Einsendungen registriert. Davon waren 315 Einsendungen von PatientInnen mit Verdacht auf *C. difficile*-Infektionen und 180 Proben wurden im Rahmen diverser Studien analysiert. 212 Proben waren Stuhl-Einsendungen, 283 waren Einsendungen von Bakterienisolaten. 293 Proben wurden kulturell verifiziert und analysiert. Anhand der vorliegenden Daten ist die Berechnung einer Jahresinzidenz weder für ganz Österreich noch für einzelne Bundesländer möglich. Dennoch stellen die *Clostridium difficile*-Infektionen (CDI) für unser Land, wie für viele andere westliche Länder auch, eine ernst zu nehmende Problematik dar, sowohl im stationären als auch im niedergelassenen Bereich der Gesundheitspflege. Mit einer Letalität von 4% in der Altersgruppe von über 60 Jahren weicht die Situation in Österreich nicht von der in anderen Ländern ab. Die molekularbiologische Analyse ergab Unterschiede zwischen verschiedenen Österreichregionen. Die repräsentativen Cluster-Muster ermöglichten gezielte Interventionen zum Zwecke der Unterbrechung der Übertragungsketten, sowie epidemiologische Ausbruchserklärungen. Auch in Österreich macht sich ein Anstieg der diagnostizierten CDI bemerkbar, besonders durch die, vor wenigen Jahren noch wenig vertretenen, virulenteren Stämmen Ribotyp 027 und 078.

Summary

In 2010 a total of 495 specimens were analysed for *Clostridium difficile* by the national reference centre at the Austrian Agency for Health and Food Safety. A total

of 315 specimens originated from patients with suspicion of *C. difficile* infection (n=315) and 180 specimens (n=180) were analysed as a part of various studies. 212 specimens were stool samples (n=212) and 283 were human isolates (n=283). The data do not allow calculation of an annual incidence, neither for Austria nor for single provinces. As in other western countries, *Clostridium difficile* Infections (CDI) cause important healthcare associated infections in Austrian inpatients as well as in Austrian outpatients. The fatality was 4% in the age group over 60 years. The molecular biological analysis revealed differences between different regions of Austria. Analysis of cluster patterns allowed selective interventions for the purpose of the interruption of transmission chains. In Austria an increase in CDI has occurred over the last years, which is mainly due to emergence of highly virulent strains of ribotyp 027 and 078.

Einleitung

Clostridium difficile, ein grampositives, sporenbildendes, anaerob wachsendes, mobiles Stäbchenbakterium, ist ein ubiquitärer Keim, der sowohl den Darm von Mensch und Tier besiedeln, als auch in der Umwelt (in der Erde sowie im aquatischen Milieu) über längere Zeit überdauern kann [1,2,3]. Es gilt seit langem als Erreger der postantibiotischen Kolitis. Zu Beginn des neuen Millenniums, wurde ein Anstieg der Prävalenz der *Clostridium difficile* Infektionen (CDI), deren Schweregrad, sowie der vermehrte Nachweis hochvirulenter Ribotypen, wie der von 027 oder 078, registriert. Diese neuen *Clostridium difficile*-Stämme besitzen die Fähigkeit, ein Mehrfaches an Toxin A oder B zu bilden, sowie auch das binäre Toxin [4]. Man geht davon aus, dass 3-8 % der Erwachsenen und bis zu 80 % der Neugeborenen mit *Clostridium difficile* kolonisiert sind, ohne dass Krankheitssymptome auftreten. Bei den hospitalisierten PatientInnen ist die Besiedelungsrate wesentlich höher und kann, je nach Dauer des Krankenhausaufenthaltes und nach Art des Kontaktes mit besiedelten oder erkrankten Zimmernachbarn, von 13-50 % betragen. CDI wurden auch beim Krankenhauspersonal beschrieben, was durch die Dauerexposition gegenüber erhöhte Mengen von *C. difficile* erklärbar sein könnte [5]. *Clostridium difficile* assoziierte Diarrhöe ist die häufigste bakterielle Ursache der nosokomialen Gastroenteritis. Die Übertragung kann auf mehreren Wegen erfolgen, hauptsächlich fäkal-oral (als Schmierinfektion von Mensch zu Mensch), auf direktem oder indirektem Weg, exogen oder endogen. Auch eine zoo-anthroponotische Transmissionskette wurde nachgewiesen [7]. Nicht alle Exponierte weisen das gleiche Risiko auf, eine CDI zu akquirieren. Als Risikofaktoren gelten: schlechte Abwehrlage, Zustand nach oder unter Antibiotikatherapie (in erster Linie Cephalosporine, Clindamycin, Gyrasehemmer), Alter (über 60 Jahre), Therapien mit Zytostatika oder Antazida, Komorbidität (Malignome, Magendarmoperationen, Leber- oder Nierenerkrankungen, atrophe Gastritis). Die Beeinträchtigung der normalen Darmflora und anderer lokaler und systemischer Abwehrmechanismen, begünstigt die Vermehrung von *Clostridium difficile* und die Produktion von Toxinen, die für das typische Krankheitsbild verantwortlich sind. Die meistproduzierten Toxine sind Toxin

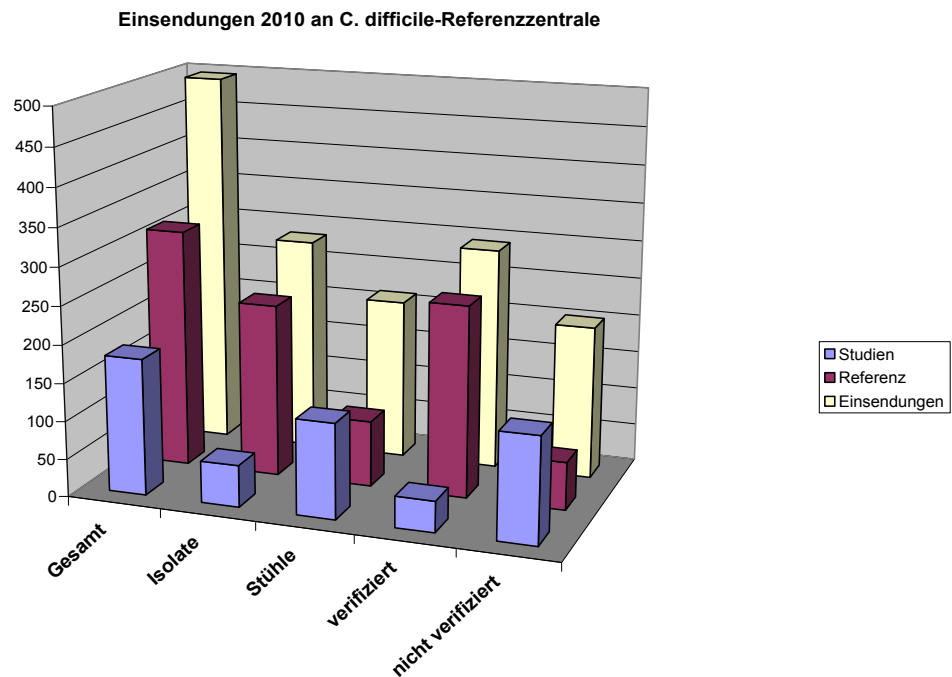
A (Enterotoxin) und Toxin B (Zytotoxin), die bei vorgeschädigter Schleimhaut Krankheitssymptome hervorrufen: sekretorische Diarrhö, Schädigung der Darmmukosa mit krampfartigen Abdominalschmerzen und systemischen Entzündungszeichen (Fieber, Leukozytose, Hypoalbuminämie, Anstieg der Entzündungsparameter im Blut), manchmal mit Bildung von Pseudomembranen und schwerwiegenden Komplikationen, wie dem toxischen Megakolon. Auch Darmperforation mit Peritonitis und Schocksymptomatik, die einer Intensivbehandlung bedürfen und nicht selten zu Tod führen können, werden beobachtet. Ein zusätzlich gebildetes Toxin, das bisher nur bei virulenteren Stämmen nachgewiesen wurde und verantwortlich für die Komplikationen gemacht wird, ist das binäre Toxin, das bisher bei circa 6 % der *Clostridium difficile*-Stämme nachgewiesen wurde.

Da Sporen von *Clostridium difficile* eine ausgesprochene Umweltresistenz aufweisen, sind verstärkte Hygienemaßnahmen erforderlich (z.B. die Verwendung von Sauerstoff- oder Chlorabspaltenden Produkten), um rechtzeitig und effizient die Verbreitung von nosokomialen Infektionen oder Ausbrüchen verhindern zu können.

Ergebnisse

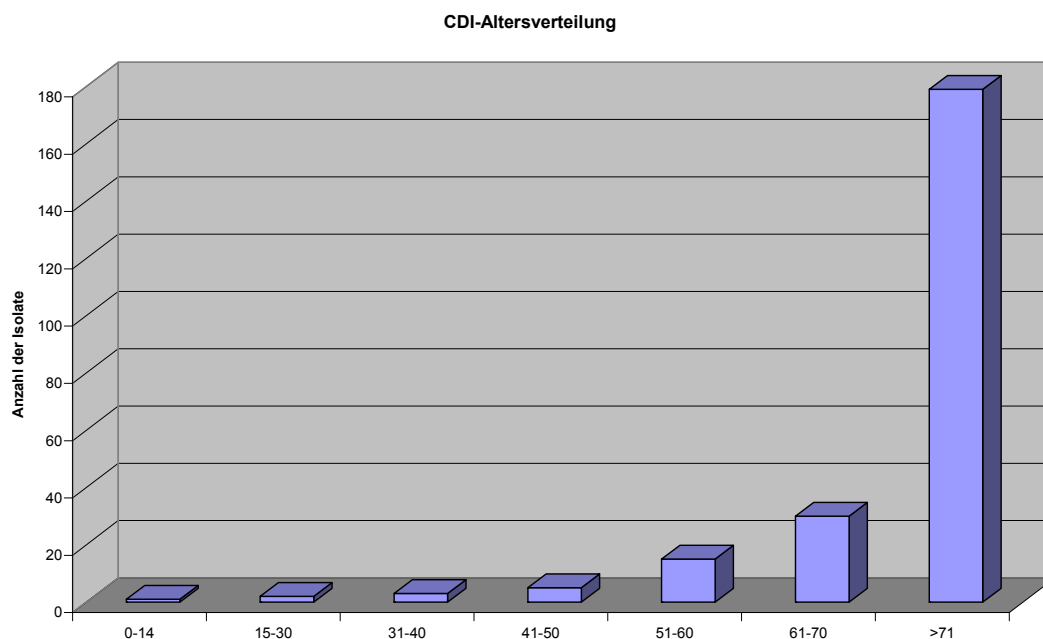
Im Jahr 2010 wurden in Österreich von der Referenzzentrale der AGES 495 *Clostridium difficile* Einsendungen registriert (Abb. 1). Davon waren 315 Einsendungen von PatientInnen mit Verdacht auf *C. difficile*-Infektionen. 180 Proben wurden im Rahmen diverser Studien analysiert. 212 Proben waren Stühle, 283 waren Humanisolate. 293 Proben wurden kulturell verifiziert und analysiert. Von 252 bestätigten Proben stammen 249 von hospitalisierten und 3 von ambulanten Patienten. Die Mehrzahl der Einsendungen stammte aus Wien (n=228) und Salzburg (n=187). Im Folgenden werden die Studieneinsendungen von der Auswertung ausgenommen.

Abb. 1 Anzahl der zur nationalen Referenzzentrale im Jahr 2010 eingesandten Proben (inklusive Studien)



Eine Berechnung der Jahresinzidenz war weder für Österreich noch für die einzelnen Bundesländer möglich. Dennoch war es möglich eine repräsentative Einteilung der CDI nach Altersgruppen und Geschlecht der PatientInnen durchzuführen. Wie auch in der Literatur erwähnt, sind die *Clostridium difficile* assoziierten Erkrankungen vor allem bei der Altersgruppe 60+ zu finden (Abb. 2). Angaben über das PatientInnenalter liegen für 252 Proben vor. Angaben zum PatientInnengeschlecht liegen bei 210 Proben vor. Bei diesen Stuhlisolaten konnten wir ein deutliches Überwiegen des weiblichen Geschlechtes feststellen (Abb. 4).

Abb. 2: Altersverteilung der im Jahr 2010 von der nationalen Referenzzentrale bestätigten Proben



Die jahreszeitlichen Schwankungen der Anzahl der eingesandten Proben (Abb. 3) erlauben keine validen Rückschlüsse über die saisonale Verteilung der CDI.

Abb. 3: Jahreszeitliche Verteilung der CDI nach Einsendedatum in die Referenzzentrale

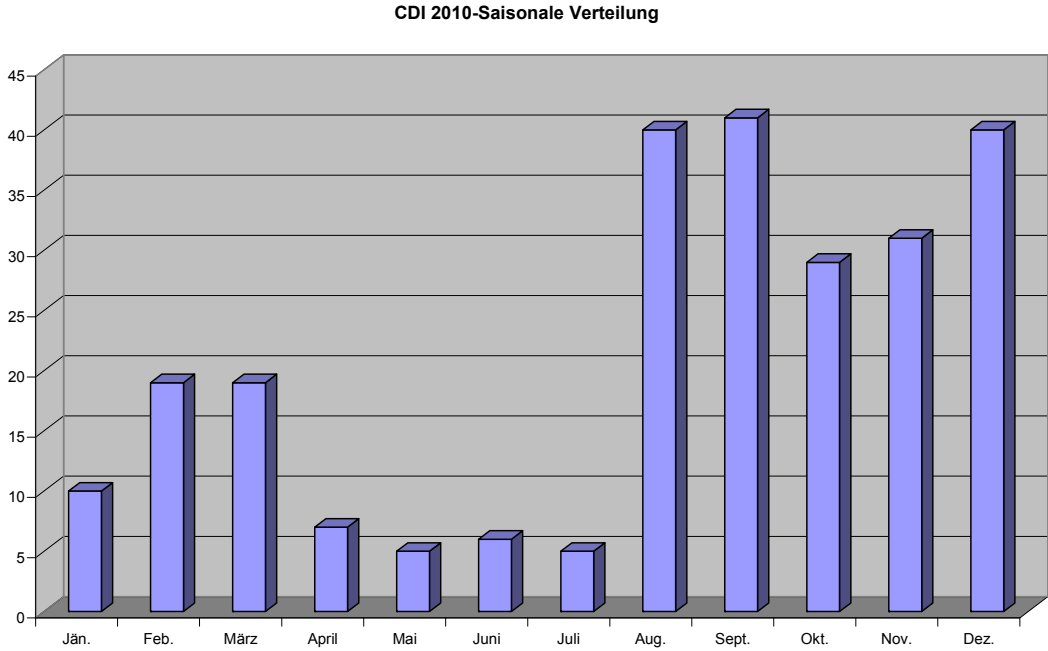


Abb. 4: Geschlechtsverteilung der von der nationalen Referenzzentrale registrierten CDI-Fälle in 2010 (ausgenommen Studien)

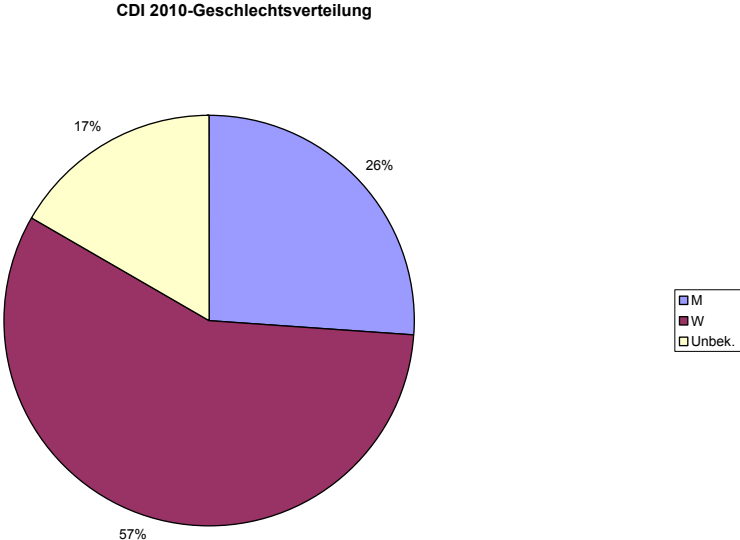
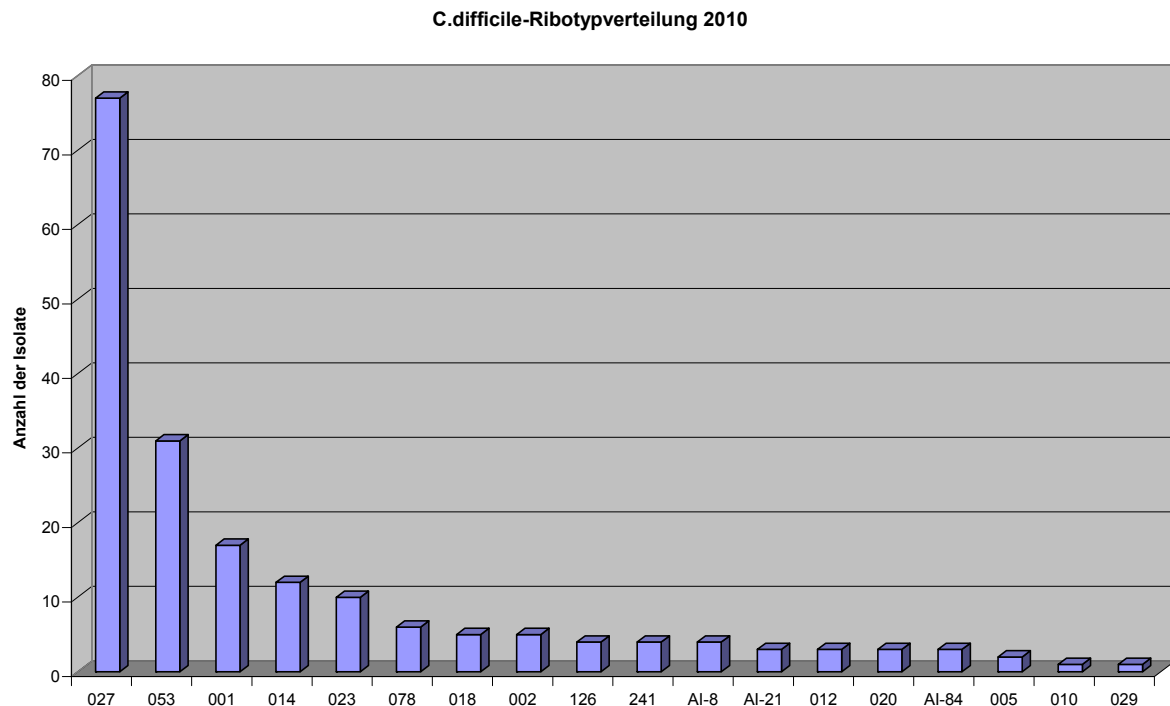


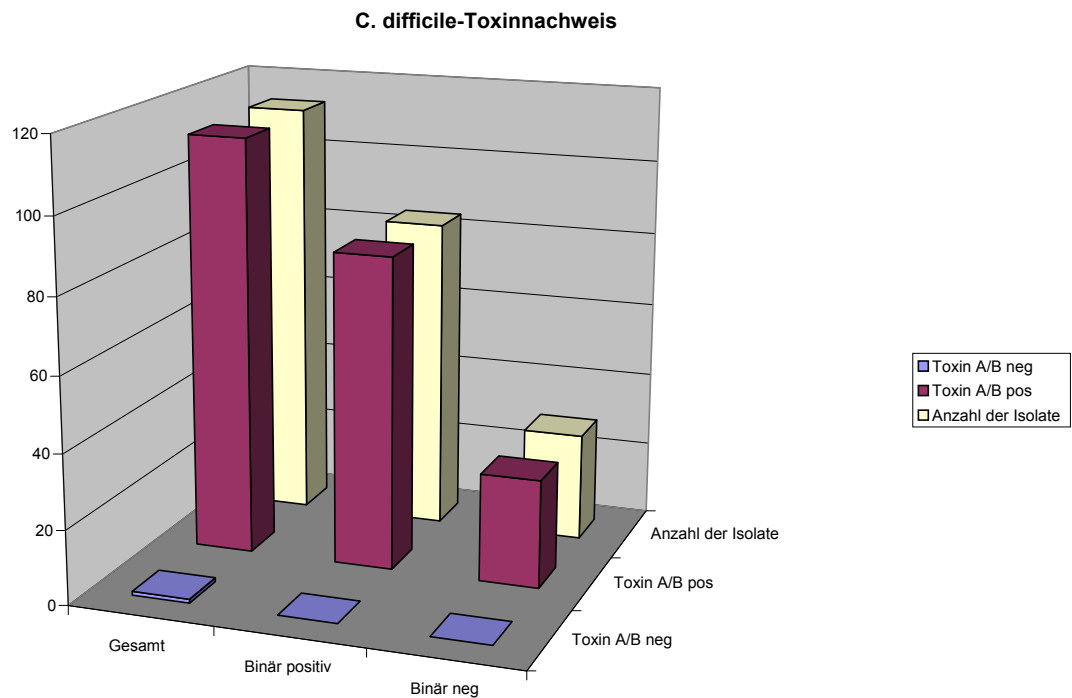
Abb. 5: Darstellung der am häufigsten vorkommenden Ribotypen von *C. difficile*. Ergebnisse der 2010 von der nationalen Referenzzentrale durchgeführten Typisierungen von 252 *C. difficile*-Isolaten.



Es wurden 113 bestätigte Isolate mikrobiologisch auf Antibiotika-Empfindlichkeit und molekularbiologisch auf Bildung von Toxin A, B und binärem Toxin getestet. 252 Isolate wurden ribotypisiert. Eine Darstellung der in Österreich am häufigsten vorkommenden Ribotypen ist der Abb. 5 zu entnehmen.

1 % aller getesteten Isolate waren keine Toxinbildner, bei 99 % der getesteten Isolate konnten sowohl das Toxin A als auch das Toxin B nachgewiesen werden (Abb. 6). Die Fähigkeit, das binäre Toxin zu bilden wiesen 84 Stämme (74 %) auf.

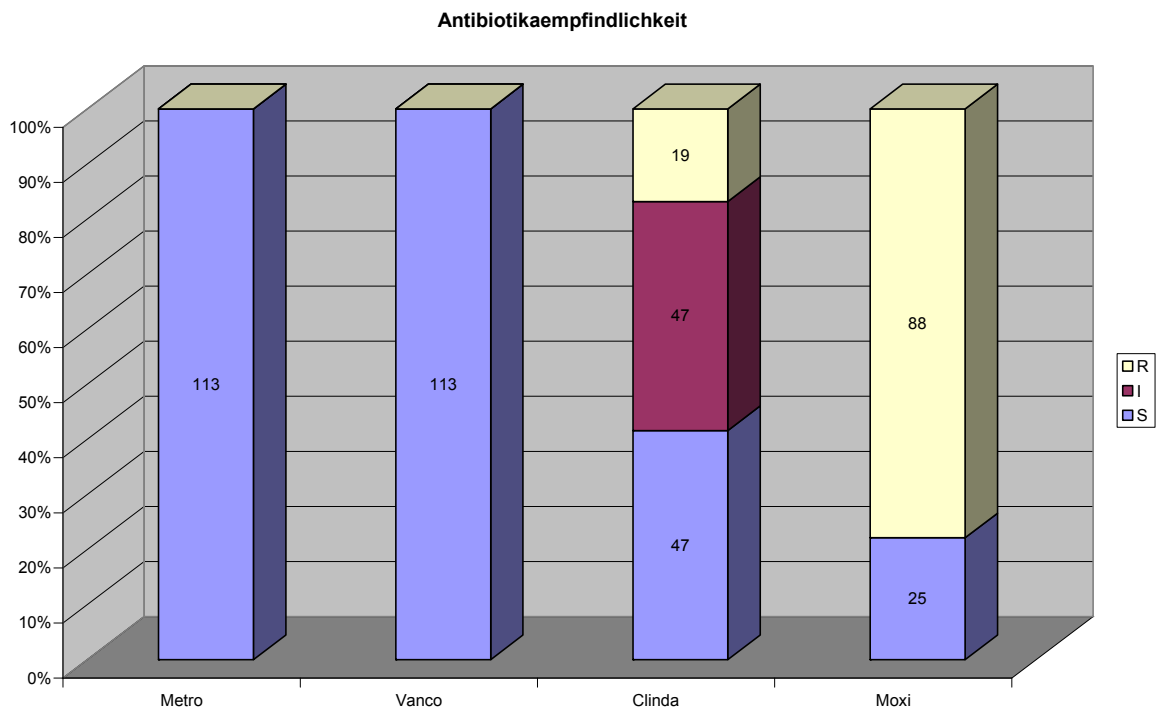
Abb. 6: Molekularbiologischer Nachweis von Toxin A/B/Binär in 113 C. difficile Isolate



Der Nachweis von binärem Toxin gelang in 100 % der Fälle mit Ribotyp 027 und 078. 4 % der Stämme, die die genetische Eigenschaft erwiesen, binäres Toxin zu bilden, gehörten zu anderen, seltener vorkommenden Ribotypen (Abb. 9).

Die Empfindlichkeit gegenüber Antibiotika wurde mittels E-Test bestimmt. Getestet wurden: Metronidazol, Vancomycin, Clindamycin und Moxifloxacin. Alle Isolate waren in vitro empfindlich gegen Metronidazol und Vancomycin. Über ein Drittel der Isolate wies eine Resistenz gegenüber Clindamycin auf und etwas mehr als zwei Drittel zeigte eine reduzierte Empfindlichkeit, bzw. eine hochgradige Resistenz gegenüber dem Fluorochinolon (Abb. 7).

Abb. 7: Ergebnisse der in vitro Empfindlichkeitstestung von 113 C. difficile-Isolate



Die hochvirulenten Stämme vom Ribotyp 027 zeigten eine hochgradige Moxifloxacin-Resistenz (Abb. 8). Auch wiesen viele Stämme eine reduzierte Empfindlichkeit gegenüber Clindamycin auf. Es wurde keine Resistenz gegenüber Vancomycin oder Metronidazol nachgewiesen.

Abb. 8: Ergebnisse der in vitro Empfindlichkeitstestung gegenüber Clindamycin und Moxifloxacin von 58 C. difficile Isolate Ribotyp 027.

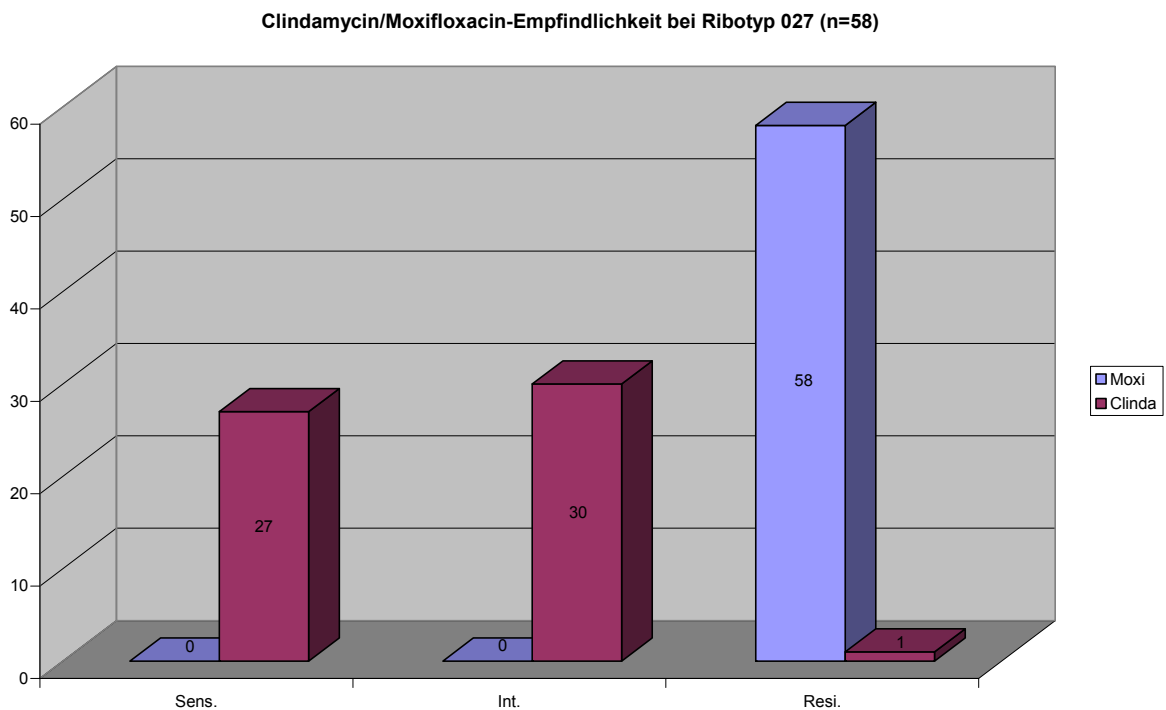
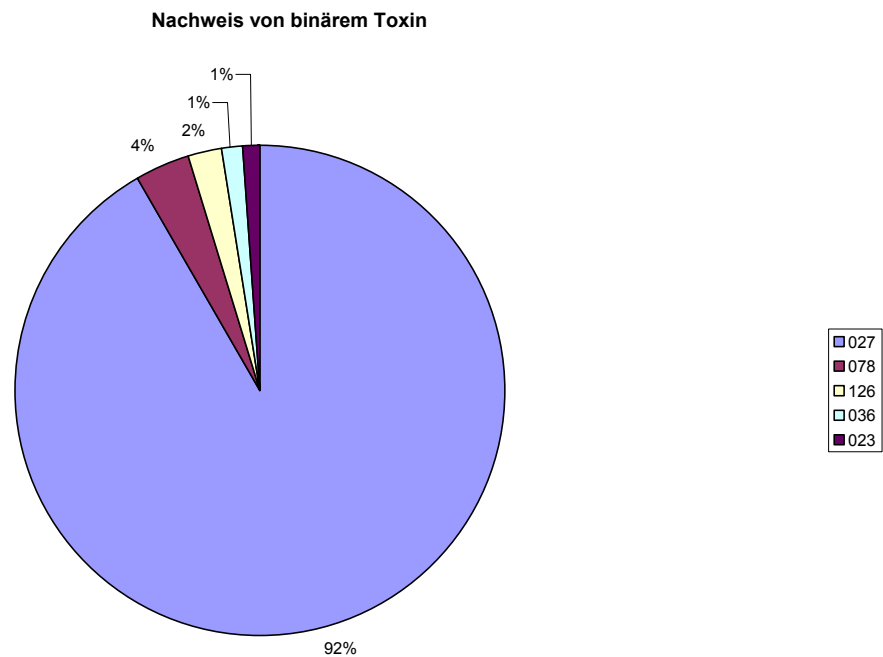


Abb.9



Angaben zur Klinik liegen für 74 von 252 Fälle vor (29 %). 59 PatientInnen hatten Durchfall, 15 wiesen Fieber auf. Antibiotikaverbrauch wurde bei 46 (18 %) der CDI-Fälle mitgeteilt. Antazida wurden in 6 % der Fälle verabreicht. Andere Risikofaktoren wie Darmerkrankungen (n=1), Darmkarzinom (n=1) wurden gelegentlich erwähnt.

Als schwere CDI-Fälle wurden 35 (14 %) bezeichnet. Eine CD assoziierte Erkrankung ist laut Falldefinition der AGES dann als schwer zu werten, wenn mindestens eines der folgenden Kriterien erfüllt ist: 1. wenn es sich um eine CD assoziierte Erkrankung handelt, die intensivmedizinischer Behandlung bedarf oder 2. wenn eine CD assoziierte Erkrankung vorliegt, die aufgrund damit verbundener Komplikationen, wie Darmperforation oder therapiefraktärer Kolitis, chirurgischer Behandlung bedarf oder 3. eine CD assoziierte Erkrankung mit letalem Ausgang, wobei die Erkrankung in direktem oder indirektem kausalen Zusammenhang mit dem letalen Ausgang stehen kann. Davon waren 8 PMC, 3 toxisches Megakolon, 2 Kolektomien, 4 Peritonitiden. In 9 Fällen haben die PatientInnen einer intensivmedizinischen Behandlung infolge einer CDI benötigt. 10 Todesfälle sind uns berichtet worden.

Diskussion

Mit einer steigenden Inzidenz und einer Letalität von 4 % werden *Clostridium difficile* und die von ihm verursachten Erkrankungen an erster Stelle nosokomialer antibiotikaassoziierter Durchfallerkrankungen situiert. Obwohl 3 % der Erwachsenen und noch mehr Kleinkinder mit diesem Erreger besiedelt sind, bleiben die *Clostridium difficile* Infektionen und die dadurch entstehenden Komplikationen ein spezifisches Risiko der älteren, multimorbiden PatientInnen. Eine vorangehende Therapie mit

Antibiotika bleibt ein wesentlicher Risikofaktor, jedoch nicht der einzige. Andere Risikofaktoren (z.B. Therapien mit Zytostatika oder Antazida, Komorbidität wie Malignome, Magendarmoperationen, Leber- oder Nierenerkrankungen, atrophe Gastritis) werden von den Einsender nicht immer mitgeteilt. Die 19. Verordnung des Bundesministers für Gesundheit hinsichtlich einer Änderung der Verordnung betreffend anzeigepflichtige übertragbare Krankheiten, ausgegeben am 18.01.2010, führte die Meldepflicht von schweren CDI-Fällen ein [8].

Nicht nur im nosokomialen, sondern auch im niedergelassenen Bereich scheint die Prävalenz der CDAD zu steigen. Die vor einem Jahr lediglich als sporadische Fälle nachgewiesenen virulenten Stämme (Ribotyp 027 und 078), haben im Jahr 2009 einen deutlichen Anstieg registriert, wie ein Ausbruch mit dem Ribotyp 027 in drei Wiener Spitälern zeigte [6]. 99 % aller hypervirulenten (Ribotyp 027) *C. difficile* Isolate registriert in 2010 stammten aus 7 Wiener Krankenhäusern. Im Jahr 2008 war erstmalig ein Ausbruch mit diesem neuen Erreger festgestellt worden [6,9]. Ein Isolat stammte aus Salzburg. Eine wesentliche Aufgabe der Referenzzentrale ist es, durch molekularbiologische Feintypisierungen Ausbrüche in Krankenhäusern rechtzeitig zu erkennen und dadurch zielgerichtete Interventionsmaßnahmen zu ermöglichen. Die Teilnahme an europäischen Überwachungsprogrammen stellt eine weitere Aufgabe dieser Referenzzentrale dar [10].

Danksagung

Wir bedanken uns bei folgenden Einsendern:

SALK Labor GmbH.; Pathologisch-bakteriologisches Institut Kaiserin Elisabeth Spital Wien; Pathologisch-bakteriologisches Institut Wilhelminenspital Wien; Pathologisches Institut LKH Feldkirch; Pathologisch-bakteriologisches Institut KA Rudolfstiftung Wien; Institut für Hygiene und Mikrobiologie Innsbruck; Pathologisch-bakteriologisches Institut Kaiser Franz Josef Wien; Mikrobiologisches Labor AKH Wien; Pathologisch-bakteriologisches Institut Sozialmedizinisches Zentrum Ost Wien; Klinische Pathologie, Mikrobiologie und Infektionsdiagnostik Krankenhaus der Barmherzigen Schwestern Ried; Pathologie und klinische Bakteriologie KH Hietzing Wien; St. Anna Kinderspital Wien; Labor Mustafa Salzburg; Institut für Pathologie LKH Villach; Pathologisch-bakteriologisches Institut Otto Wagner Spital Wien; Mikrobiologisches Labor LKH Klagenfurt; KH Lorenz Böhler Wien, KH Göttlicher Heiland Wien; Institut für klinische Pathologie und Mikrobiologie KH Oberwart.

Literatur

- [1]. Indra A, Schmid D, Huhulescu S, Hell M, Gattringer R, Hasenberger P, Fiedler A, Wewalka G, Allerberger F (2008) **Characterization of clinical *Clostridium difficile* isolates by PCR ribotyping and detection of toxin genes in Austria, 2006–2007.** *J Med Microbiol* 57:702-708
- [2]. Indra A, Huhulescu S, Hasenberger P, Schmid D, Alfery C, Würzner R, Fille M, Gattringer K, Kuijper E, Allerberger F (2006) **First isolation of *Clostridium difficile* PCR ribotype 027 in Austria.** *Eurosurveillance*, Volume 11, Issue 37, 14 September
- [3]. Indra A, Huhulescu S, Kernbichler S, Kuo HW, Feierl G, Holler A, Skrabal F, Tucek G, Allerberger F (2008) **First cases of *Clostridium difficile* PCR ribotype 027 acquired in Austria.** *Eurosurveillance* Edition 2008: Volume 13/ Issue 20 Article 3
- [4]. Indra A, Huhulescu S, Schneeweis M, Hasenberger P, Kernbichler S, Fiedler A, Wewalka G, Allerberger F, Kuijper EJ (2008) **Characterization of *Clostridium difficile* isolates by capillary gel electrophoresis based PCR ribotyping.** *J Med Microbiol* 57: 1377-1382
- [5]. Hell M, Indra A, Huhulescu S, Allerberger F. ***Clostridium difficile* Infection in a Health Care Worker.** *Clin Infect Dis.* 2009 May 1;48(9):1329.
- [6]. Indra A, Huhulescu S, Fiedler A, Kernbichler S, Blaschitz M, Allerberger F. **Outbreak of *Clostridium difficile* 027 infection in Vienna, Austria 2008-2009.** *Euro Surveill.* 2009 Apr 30;14(17). pii: 19186
- [7]. Jöbstl M, Heuberger S, Indra A, Nepf R, Köfer J, Wagner M (2010) ***Clostridium difficile* in raw products of animal origin.** *Int J Food Microbiol*/138:172-175.
- [8]. Bundesministerium für Gesundheit, 2010. Änderung der Verordnung betreffend anzeigepflichtige übertragbare Krankheiten 2009, **Bundesgesetzblatt II Nr.19/2010**
https://www.ris.bka.gv.at/Dokumente/BgblAuth/BGBLA_2010_II_19
- [9]. Kasper S, Schmid D, Indra A, Ulrich W, Masoud H, Eberl S, Huhulescu S, Allerberger F (2011) ***C. difficile* in a hospital in Vienna before and after implementation of CDI control measures, Austria 2009-2010.** Abstract 21.113. *Abstract Proceedings of the International Meeting on Emerging Diseases and Surveillance IMED 2011*, Vienna, February 4-7, 2011; pp. 170-171.
- [10]. Bauer MP, Notermans DW, van Benthem BHB, Brazier JS, Wilcox MH, Rupnik M, Monnet DL, van Dissel JT and Kuijper EJ, for the ECDIS Study Group (2010) ***Clostridium difficile* infection in Europe: a hospital-based survey.** *Lancet* 377(9759):63-73