

Nationale Referenzzentrale für *Clostridium difficile*

Jahresbericht 2011

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

Ansprechpersonen:
Dr. Alexander Indra
Dr. Steliana Huhulescu

Zusammenfassung

Im Jahr 2011 wurden 141 Einsendungen an die österreichische Referenzzentrale für *Clostridium difficile* übermittelt, 125 davon waren Reinkulturen und 16 Stuhlproben. Aufgrund weitverbreiteter Vorselektion der eingesandten Proben mittels kommerzieller molekularbiologischer Screeningssysteme auf die hypervirulenten PCR-Ribotypen 027 und 078 ist eine Berechnung von Jahresinzidenzen nicht zielführend. Der PCR-Ribotyp 027 fand sich bei 68 (48 %) der 131 typisierten Einsendungen des Jahres 2011. Diese Isolate zeigten eine sehr hohe molekularbiologische Verwandtschaft zu dem in den Jahren 2008-2009 erstmals beschriebenen Wiener PCR-Ribotyp 027-Ausbruchsstamm. Der Referenzzentrale wurden im Jahr 2011 17 tödlich verlaufenen *C. difficile*-Infektionen bekannt. Die in vitro-Resistenztestung von 116 Isolaten mittels E-Test zeigte, dass nur mehr 24 % gegenüber Moxifloxacin empfindlich waren.

Summary

In the year 2011 a total of 141 samples (16 stool samples and 125 culture isolates) were sent to the Austrian National Referencecentre for *Clostridium difficile*. Using commercial PCR-kits, many laboratories perform prescreening for the hypervirulent PCR-ribotypes 027 and 078. PCR-ribotype 027 accounted for 68 of the 131 typed isolates (48 %). The PCR-ribotype 027 isolates of 2011 proved to be closely related with a strain initially described during an outbreak in Vienna 2008-2009. Fatal outcome was reported for 17 cases. In vitro-susceptibility testing using Epsilon-tests was performed on 116 isolates; only 24 % were susceptible to moxifloxacin.

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 Erde und in aquatischem Milieu) über längere Zeit überdauern kann [1,2]. Es gilt seit langem als Erreger der antibiotikaassoziierten Kolitis. Zu Beginn des neuen Millenniums wurde ein Anstieg der Prävalenz der *Clostridium difficile* Infektionen (CDI), deren Schweregrad sowie der vermehrte Nachweis der hochvirulenten Ribotypen 027 und 078 registriert. Diese neuen *Clostridium difficile*-Stämme besitzen die Fähigkeit, ein Mehrfaches an Toxin A oder B zu bilden sowie auch das binäre Toxin zu produzieren [3]. Man geht davon aus, dass 0 bis 3 % der Erwachsenen und bis zu 80 % der Säuglinge mit *Clostridium difficile* kolonisiert sind, ohne dass Krankheitssymptome auftreten [3,4]. Bei hospitalisierten Patientinnen und Patienten ist die Besiedelungsrate wesentlich höher und kann, je nach Dauer des Krankenhausaufenthaltes und nach Art des Kontaktes mit besiedelten oder erkrankten Bettnachbarn, 13-50 % betragen. CDI wurde auch beim Krankenhauspersonal beschrieben [5]. *Clostridium difficile*-Infektion ist die häufigste bakterielle Ursache der nosokomialen Gastroenteritis. Die Übertragung erfolgt hauptsächlich fäkal-oral (als Schmierinfektion von Mensch zu Mensch, auf direktem oder indirektem Weg). Die Quelle kann exogen oder endogen sein. Die Rolle von tierischen Lebensmitteln als Quelle von CDI wird kontrovers diskutiert [6]. 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 [7,8].

Ergebnisse

Im Jahr 2011 wurden 141 *Clostridium difficile*-Proben an die Referenzzentrale gesandt; 125 waren Reinkulturen und 16 waren native Stuhlproben. Davon waren 97 von weiblichen und 44 Einsendungen von männlichen Patienten. Die meisten Einsendungen kamen aus Wien ($n=89$) und Salzburg ($n=20$) mit annähernd 65 % aller eingesandten Proben (Tabelle 1).

Tabelle 1: Herkunft der *Clostridium difficile*-Proben nach Bundesländern

Bundesland	Anzahl Proben Referenzzentrale
Wien	92
Salzburg	24
Kärnten	9
Burgenland	8
Steiermark	3
Tirol	2
Vorarlberg	1
Niederösterreich	1
Oberösterreich	1

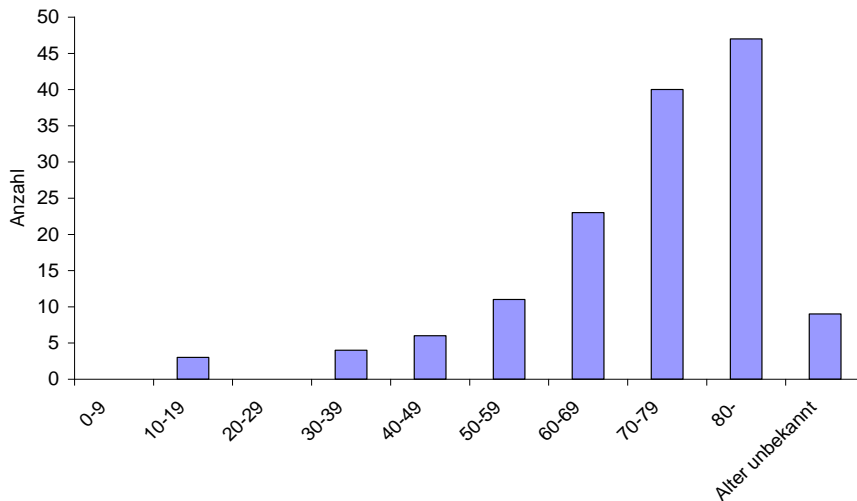


Abbildung 1: Altersverteilung der Patientinnen und Patienten von denen im Jahr 2011 *C. difficile*-Proben an die nationale Referenzzentrale eingesandt wurden.

Der am häufigsten isolierte PCR-Ribotyp war der als hypervirulenter Stamm bezeichnete PCR-Ribotyp 027, mit 68 Isolaten ($n=67$ aus Wien und einem Isolat aus Salzburg) gefolgt von Ribotyp 036 und 053 mit 7 Isolaten, und 078 mit 6; nicht auswertbar waren die Ribotypen für 10 der eingesandten Isolate (Abbildung 2).

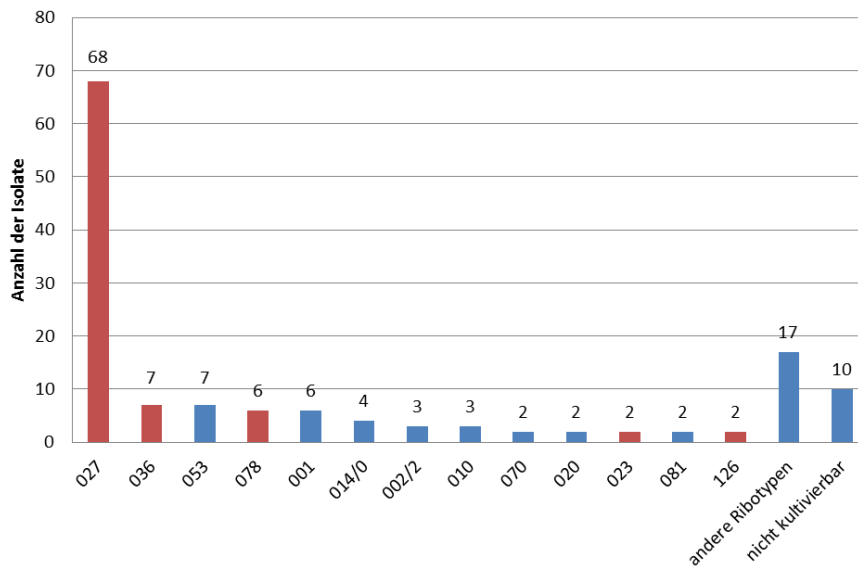


Abbildung 2: Anzahl der in der Referenzzentrale im Jahr 2011 mittels PCR-Ribotyping typisierten *Clostridium difficile*-Isolate (N = 141). Binär-Toxin positive Ribotypen sind mit roter Farbe hervorgehoben.

Die Empfindlichkeit gegenüber Antibiotika wurde mittels E-Test bei 116 Isolaten bestimmt. Getestet wurden: Metronidazol (empfindlich: $\leq 8 \mu\text{g/ml}$; intermediär: $>8 \mu\text{g/ml}$ und $<32 \mu\text{g/ml}$; resistent: $\geq 32 \mu\text{g/ml}$), Vancomycin (empfindlich: $\leq 2 \mu\text{g/ml}$; intermediär: $>2 \mu\text{g/ml}$ und $<16 \mu\text{g/ml}$; resistent: $\geq 16 \mu\text{g/ml}$), Clindamycin (empfindlich: $\leq 2 \mu\text{g/ml}$; intermediär: $>2 \mu\text{g/ml}$ und $<8 \mu\text{g/ml}$; resistent: $\geq 8 \mu\text{g/ml}$) und Moxifloxacin (empfindlich: $\leq 2 \mu\text{g/ml}$; intermediär: $>2 \mu\text{g/ml}$ und $<8 \mu\text{g/ml}$; resistent: $\geq 8 \mu\text{g/ml}$). Alle Isolate waren in vitro empfindlich gegen Metronidazol und Vancomycin. 64 % der Isolate wiesen eine reduzierte Empfindlichkeit gegenüber Clindamycin auf und 76 % zeigten eine reduzierte Empfindlichkeit (n=2) oder eine hochgradige Resistenz (n=97) gegenüber dem Fluorochinolon (Abbildung 3). Dieses unerfreuliche Ergebnis spiegelt den hohen Anteil von Ribotyp 027 bei den getesteten Isolaten wider.

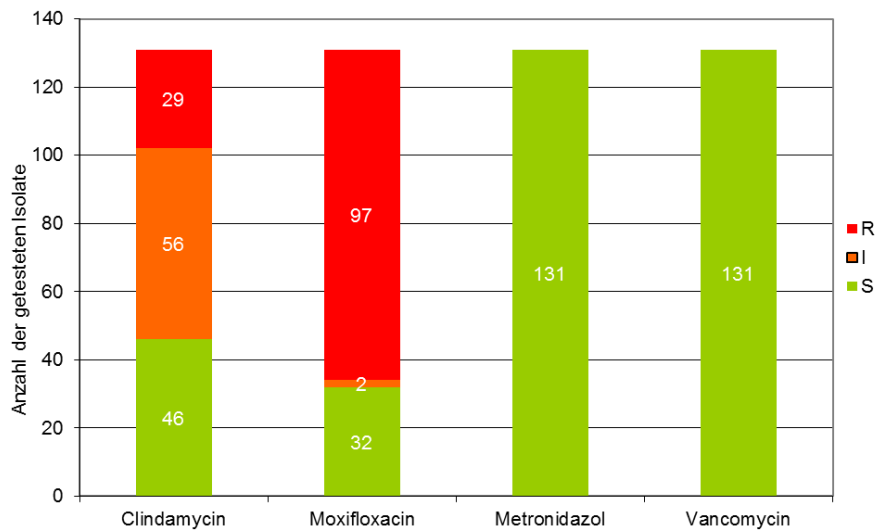


Abbildung 3: Ergebnisse der in vitro Empfindlichkeitstestung von 131 *C. difficile*-Isolaten. R: resistent; I: intermediär; S: sensibel

Bei 58 der 141 in der Referenzzentrale untersuchten Isolate konnten auch Daten zu den *C. difficile*-assoziierten Krankheitssymptomen ausgewertet werden. Risikofaktoren wie Antibiotikagabe wurden bei 29 und Antazidagabe bei 17 Patientinnen und Patienten gemeldet. Das häufigste Symptom war Durchfall in 54 Fällen, schwere Verläufe von CDI wurden in 9 Fällen mitgeteilt. Eine CDI 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. Vor allem die Ribotypen 053 ($n=4$) und 078 ($n=3$) wurden bei den 17 verstorbenen Patientinnen und Patienten isoliert (Abbildung 4), bei einem Todesfall wurde PCR Ribotyp 027 isoliert. Laut EMS verstarben infolge einer *C. difficile* Infektion lediglich vier Patientinnen und Patienten (3 Frauen und 1 Mann), auch hier zeigte sich ein Unterschied zu den Meldungen an die Referenzzentrale.

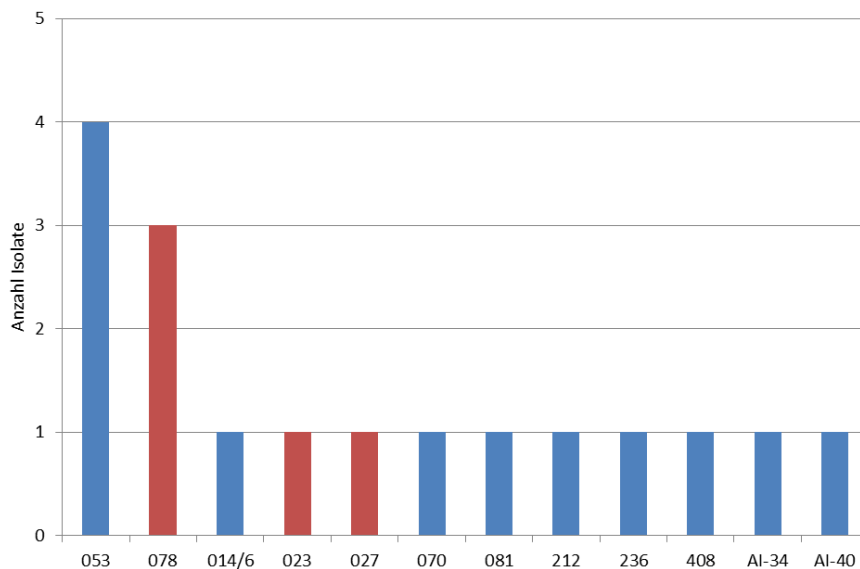


Abbildung 4: Anzahl der in der Referenzzentrale im Jahr 2011 mittels PCR-Ribotyping typisierten *Clostridium difficile*-Isolate der 17 verstorbenen Patientinnen und Patienten. Binär-Toxin positive Ribotypen sind mit roter Farbe hervorgehoben.

Diskussion

Im Jahr 2011 fand sich ein überraschend hoher Anteil von PCR-Ribotyp 027 (52 % der an die Referenzzentrale übersandten Isolate und Stuhlproben). Dieser hohe Anteil (vor allem in Wien) kann durch die oftmals beschriebene Hypervirulenz verursacht sein, kann aber auch auf die in Wien weitverbreitete Anwendung kommerzieller molekularbiologischer Testsysteme für ein Vorscreening auf Ribotyp 027 bedingt sein (Probenbias). Dieser drastische Anstieg von 027 in Österreich ist besorgniserregend, da eine inhärente Fluorochinolon-Resistenz die Weiterverbreitung dieses hypervirulenten Klon, der in Österreich erstmalig im Jahr 2006 nachgewiesen wurde, begünstigt [9]. Während die erste Einschleppung nach Tirol auf einen Einzelfall beschränkt blieb, resultierte das Auftreten in Wien in einem offensichtlich noch nicht beherrschten Ausbruch [10, 11, 12].

Der seit 2008 in Wien trotz intensiver krankenhaushygienischer Maßnahmen nicht unter Kontrolle gebrachte Ausbruch zeigt eine Problematik, die auch in Ländern wie den Niederlanden schon lange bekannt ist: *Clostridium difficile*-Ausbrüche sind schwer beherrschbar und zeigen eine hohe Neigung für Übertragungen auf weitere Abteilungen und Spitäler [13].

In Ostösterreich war in den Jahren vor 2011 PCR-Ribotyp 053 der dominante Ribotyp; im Jahr 2011 wurde 053 nur mehr bei 7 Einsendungen festgestellt. Auffällig war auch der (scheinbare) Rückgang der PCR Ribotypen 001 und 014/0, die ebenfalls in den letzten Jahren zu den häufigsten isolierten Ribotypen zählten. Vor allem Ribotyp 014/0 wurde in den letzten Jahren europaweit zum am häufigsten isolierten Ribotyp.

Im Jahr 2011 wurden bei 141 Einsendungen an die Referenzzentrale Isolate 17 (12 %) tödlich verlaufene Erkrankungen mitgeteilt, um 7 Fälle mehr als im Vorjahr. Da die Einsendungen einerseits oft vor Kenntnis des finalen Behandlungsausgangs getätigt werden („underreporting“), andererseits aber bei schweren Verläufen (mit erhöhter Letalität) die Wahrscheinlichkeit einer Probeneinsendung erhöht ist („overreporting“), sind die vom Referenzlabor passiv erfragten Sterberaten nur von eingeschränkter Validität. In einer europaweiten Studie wurde im Jahr 2010 die Letalität von CDI mit 22 % berichtet [14]. Wenisch *et al.* ermittelten für die Jahre 2008-2010 für ein Wiener Spital eine CDI-Fallsterblichkeit von 17 % (Fallsterblichkeit bei nicht-CDI-Patienten: 6,7 %) [15,16]. Somit scheinen sich die Angaben der Referenzzentrale als grober Parameter zur Abschätzung des CDI-Sterblichkeit-Trends zu eignen.

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]. Allerberger F. ***Clostridium difficile* Infektion** In: **Krankenhaus- und Praxishygiene**. Kramer A., O. Assadian, M. Exner, N.-O. Hübner, A. Simon (Eds.), Elsevier Urban Fischer Verlag, München, 2011, pp. 223-226.
- [3]. Crobach MJT, Dekkers OM, Wilcox MH, Kuijper EJ (2009) European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): **Data review and recommendations for diagnosing *Clostridium difficile*-infection (CDI)**. Clin Microb Infect. 15: 1053-1066.
- [3]. Hell M, Sickau K, Chmelizek G, Kern JM, Maass M, Huhulescu S, Allerberger F (2011) **Absence of *Clostridium difficile* stool carriage in asymptomatic volunteers**. BMC Proc. 5:1-1.
- [4]. Hell M, Sickau K, Chmelizek G, Kern JM, Maass M, Huhulescu S, Allerberger F (2012) **Absence of *Clostridium difficile* in asymptomatic hospital staff**. AJIC in press

- [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]. 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.
- [7]. Indra A, Lassnig H, Baliko N, Much P, Fiedler A, Huhulescu S, Allerberger F (2009) **Clostridium difficile: a new zoonotic agent?** Wien Klin Wschr. 121:91-95
- [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]. 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
- [10]. 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
- [11]. 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
- [12]. 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.
- [13]. Kuijper EJ, Barbut F, Brazier J, Kleinkauf N, Suetens C, Drudy D, Fitzpatrick F, Wiuff C, Pituch H, Reichert P, Widmer AF, Olsen KE, Allerberger F, Notermans DW, Delmée M, Coignard B, Wilcox M, Pearson A, Patel BC, Brown DJ, Frei R, Bouza E, Åkerlund T, Virolainen-Julkunen A, Ingebretsen A, Poxton IR, Tüll P, Monnet D (2008) **Update of Clostridium difficile-associated disease due to PCR ribotype 027 in Europe**. Euro Surveill. 2008;13(31):pii=18942. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=18942>
- [14]. 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
- [15]. Wenisch JM, Schmid D, Tucek G, Kuo HW, Allerberger F, Michl V, Tesik P, Laferl H, Wenisch C (2012) **A prospective cohort study on hospital mortality due to Clostridium difficile infection**. Infection in press
- [16]. Wenisch JM, Schmid D, Kuo HW, Simons E, Allerberger F, Michl V, Tesik P, Tucek G, Wenisch C (2012) **Hospital-acquired Clostridium difficile infection: Determinants for severe disease**. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. DOI 10.1007/s10096-011-1522-5