

Nationale Referenzzentrale für *Clostridium difficile*

Jahresbericht 2016

Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit
Institut für medizinische Mikrobiologie und Hygiene
A-1094 Wien, Währingerstr. 25a
Tel. 050 555 37111
Fax 050 555 37109
E-mail: humanmed.wien@ages.at

Ansprechpersonen:
PD Dr. Alexander Indra
Dr. Steliana Huhulescu

Zusammenfassung

Im Jahr 2016 wurden an die österreichische Referenzzentrale für *Clostridium difficile* 57 Einsendungen übermittelt (24 Kulturisolate und 33 Stuhlproben). In das epidemiologische Meldesystem (EMS) wurden 475 Fälle eingemeldet, in 57 davon wurden die Isolate/Probenmaterial an die Referenzzentrale eingesandt. Der PCR-Ribotyp 027 fand sich bei 18 (34%) der 53 typisierten Isolate des Jahres 2016. Im Jahr 2016 wurden der Referenzzentrale vier tödlich verlaufene *C. difficile*-Infektionen bekannt. Die in vitro-Resistenztestung von 53 Isolaten zeigte, dass 45% gegenüber Moxifloxacin nicht empfindlich waren, 15% waren gegenüber Rifaximin resistent.

Summary

In the year 2016 a total of 57 samples (33 stool samples and 24 culture isolates) were sent to the Austrian National Reference centre for *Clostridium difficile*. PCR-ribotype 027 accounted for 18 (34%) of the 53 isolates typed. Fatal outcome was reported for four cases. In vitro-susceptibility testing using Epsilon-tests was performed on 53 isolates; 45% were not susceptible to moxifloxacin and 15% resistant to rifaximin.

Einleitung

Clostridium difficile [neue Bezeichnung seit 2016: *Clostridioides difficile* (*C. difficile*)], ein grampositives, sporenbildendes, obligat anaerob wachsendes, bewegliches Stäbchenbakterium, ist ein ubiquitärer Keim, der den Darm von Mensch und Tier besiedeln kann und auch in der Umwelt (in Erde und im aquatischen Milieu) über längere Zeit überdauern kann [1-4]. Es gilt seit langem als Erreger der pseudomembranösen Kolitis. Zu Beginn des neuen Millenniums wurde ein Anstieg der Prävalenz und des klinischen Schweregrades der *C. difficile*-Infektionen (CDI), sowie ein vermehrtes Vorkommen der sogenannten hochvirulenten Ribotypen 027 und 078 registriert. Diese *C. difficile*-Stämme besitzen die Fähigkeit, ein Mehrfaches an Toxin A oder B zu bilden sowie auch das sog. binäre Toxin zu produzieren [5]. Man geht davon aus, dass 0 bis 3% der Erwachsenen und bis zu 80% der Säuglinge mit *C. difficile* kolonisiert sind, ohne dass Krankheitssymptome auftreten [5,6]. Bei

hospitalisierten PatientInnen 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 in Einzelfällen auch beim Krankenhauspersonal beschrieben [7]. *C. difficile*-Infektion ist die häufigste bakterielle Ursache der nosokomialen Gastroenteritis. In den letzten Jahren wurde über eine Inzidenzzunahme der CDI auch im ambulanten Bereich, sowie bei den Gruppen, die früher mit einem geringen Risiko behaftet waren, wie etwa Kindern berichtet [8]. Die Übertragung erfolgt hauptsächlich fäkal-oral (als Schmierinfektion von Mensch zu Mensch, auf direktem oder indirektem Weg). Die Quelle ist meist exogen; Personen, die bereits mit *C. difficile* besiedelt ins Krankenhaus kommen (in Österreich: 3,5%), zeigen ein deutlich niedrigeres Risiko an CDI zu erkranken als Personen, die im Krankenhaus *C. difficile*-Sporen aufnehmen [9]. Die Rolle von tierischen Lebensmitteln als Quelle von CDI wird kontrovers diskutiert [10,11]. Infektionen mit *C. difficile* werden von den US-amerikanischen Centers for Disease Control and Prevention (CDC) als die derzeit wichtigste Resistenz-Bedrohung eingestuft, noch vor den Carbapenemase-bildenden Enterobakterien. In den USA verursacht die CDI 12,1% der nosokomialen Infektionen und ist verantwortlich für 29500 Todesfälle im Jahr [12]. In Europa verursacht *C. difficile* circa 172 000 Infektionen pro Jahr und ist verantwortlich für etwa 5,4% aller nosokomialen Infektionen und für 48% der im Krankenhaus erworbenen Gastroenteritiden [13].

Die Verordnung des Bundesministers für Gesundheit hinsichtlich einer Änderung der Verordnung betreffend anzeigepflichtige übertragbare Krankheiten, ausgegeben am 18.01.2010, führte eine Meldepflicht von schweren CDI-Fällen ein [14].

Ergebnisse

Im Jahr 2016 wurden 57 *C. difficile*-Proben an die Referenzzentrale gesandt; 24 waren Reinkulturen und 33 waren native Stuhlproben. Davon stammen 34 von weiblichen und 23 Einsendungen von männlichen Patienten. Die meisten Einsendungen kamen aus Wien (n=34). Ein Vergleich mit den im EMS gemeldeten Fällen [15] ist in der Tabelle 1 dargestellt. Eine Berechnung der Jahresinzidenzen war weder für Österreich als Ganzes noch für die einzelnen Bundesländer zielführend. Abbildung 1 spiegelt für die Einsendungen die Altersverteilung der PatientInnen wider. *C. difficile* war bei vier Einsendungen (3 Stuhleinsendungen und 1 Kultureinsendung) nicht kultivierbar. Abbildung 2 illustriert die Anzahl der stationären Aufenthalte bedingt durch *C. difficile*-Erkrankungen registriert in Österreich zw. 1997-2015 [Quelle: Diagnosen- und Leistungsberichten der österreichischen Krankenanstalten].

Der am häufigsten isolierte PCR-Ribotyp war der als hypervirulenter Stamm bezeichnete PCR-Ribotyp 027, mit 18 Isolaten (13 Isolate aus Wien, jeweils 2 Isolate aus Niederösterreich und Salzburg und ein Isolat aus der Steiermark), gefolgt von Ribotyp 023 mit sechs Isolaten, 106 mit vier Isolaten, 014/0 und 078 mit jeweils drei Isolaten, und 001, 203 und AI-12 mit jeweils zwei Isolaten (Abbildung 3). Eine prozentuelle Darstellung der Ribotypenverteilung der Jahre 2008-2016 findet sich in der Abbildung 4. Binärtoxin-positiv waren 30 von 53 Isolaten und gehörten zu folgenden Ribotypen: 027 (n=18), 023 (n=6), 078 (n=3), 126 (n=1), 131 (n=1) und 438 (n=1).

Tabelle 1: Herkunft der 57 *Clostridium difficile*-Proben nach Bundesländern verglichen mit den im EMS für 2016 gemeldeten Daten (n=475)

Bundesland	Anzahl Proben Referenzzentrale	Anzahl EMS-Meldungen ^a
Wien	34	249
Niederösterreich	3	98
Burgenland	0	13
Salzburg	7	22
Kärnten	9	11
Vorarlberg	0	23
Steiermark	1	2
Tirol	3	5
Oberösterreich	0	52

^{a)} Stand 01.02.2017; *Clostridium difficile*: beinhaltet möglicherweise auch Fälle von CDI ohne schweren Verlauf

Abbildung 1: Altersverteilung der PatientInnen von denen im Jahr 2016 *C. difficile*-Proben an die nationale Referenzzentrale eingesandt wurden (n=57).

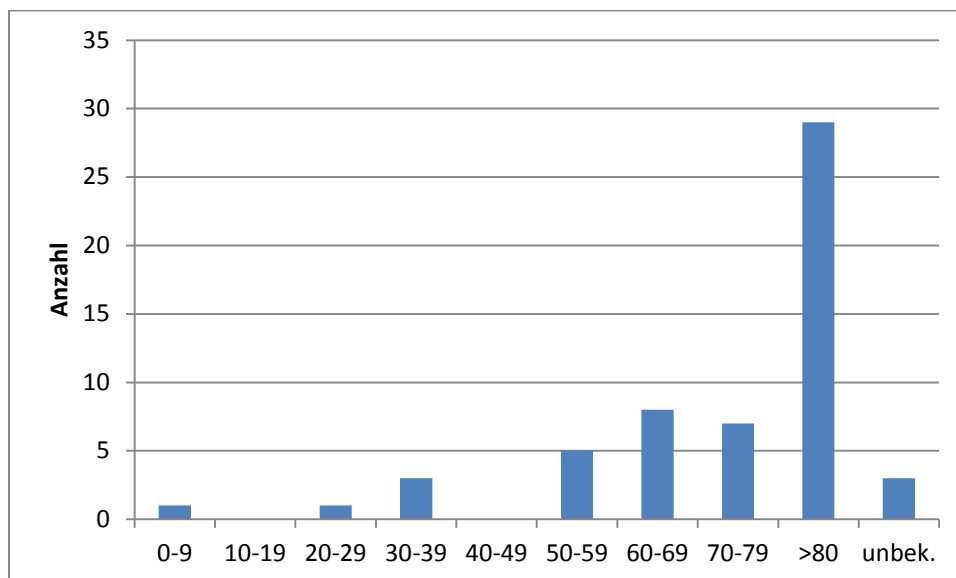


Abb. 2: *C. difficile* in Österreich: Anzahl der Fälle 1997-2015

Datenquelle: Diagnosen- und Leistungsberichte der österr. Krankenanstalten

Die Tabelle enthält die Anzahl stationärer KH-Aufenthalte mit den jeweiligen Haupt- und Zusatzdiagnosen

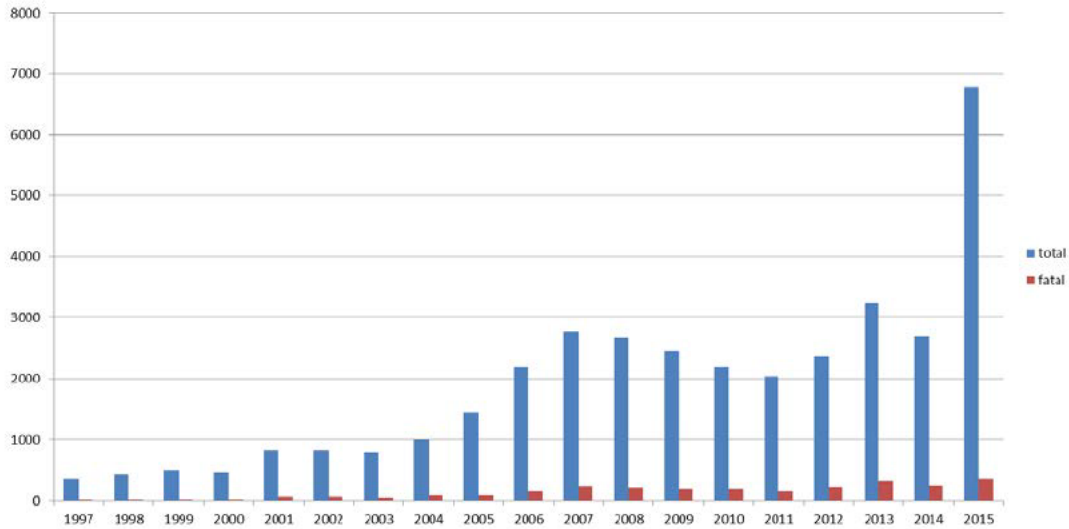


Abb. 3: Anzahl der in der Referenzzentrale im Jahr 2016 mittels PCR-Ribotyping typisierten *Clostridium difficile*-Isolate (n=53). Binär-Toxin positive Ribotypen sind mit roter Farbe hervorgehoben.

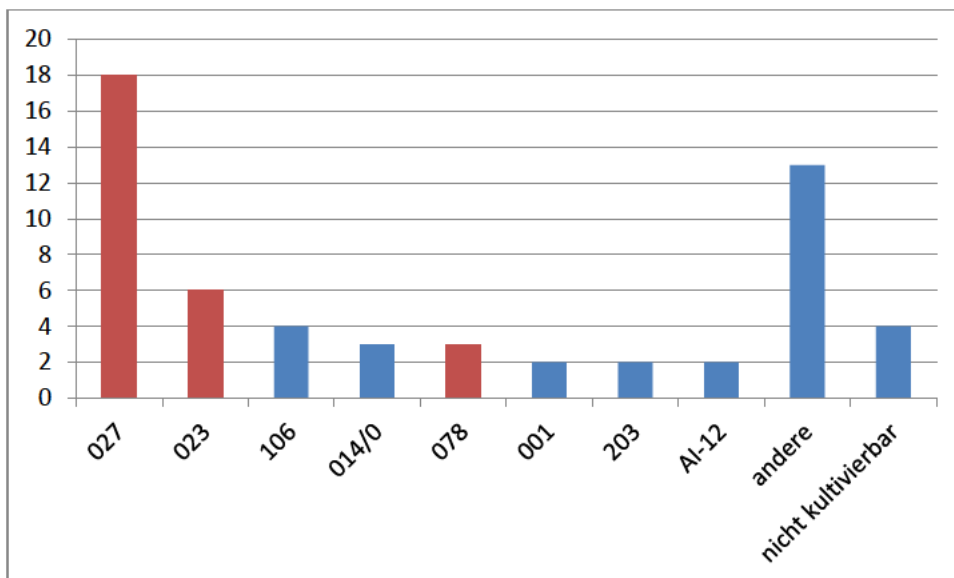
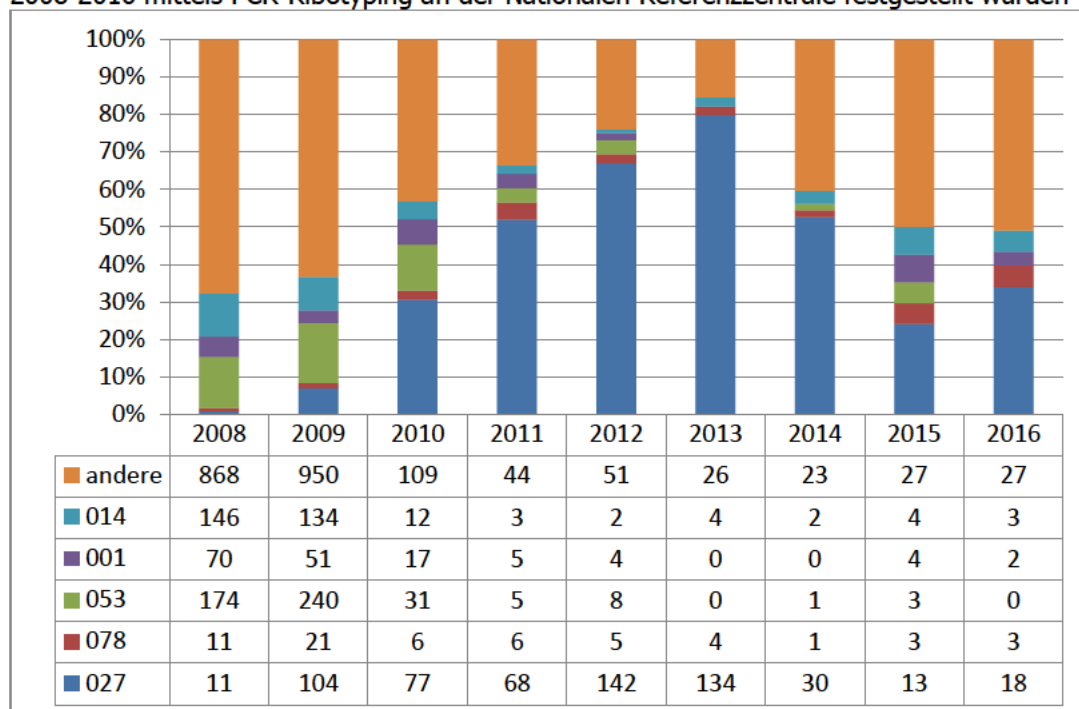


Abbildung 4: Prozentueller Anteil der am häufigsten vorkommenden Ribotypen, die in den Jahren 2008-2016 mittels PCR-Ribotyping an der Nationalen Referenzzentrale festgestellt wurden



Mittels E-Test wurde die Empfindlichkeit gegenüber fünf Antibiotika bei 53 Isolaten bestimmt: Metronidazol, Vancomycin, Clindamycin, Moxifloxacin und Rifampicin. Gegenüber Rifaximin wurde die in vitro Empfindlichkeit mittels Plättchendiffusionstest ermittelt. Die Interpretationskriterien sind in der Tabelle 2 aufgelistet. Alle Isolate waren in vitro empfindlich gegenüber Metronidazol und Vancomycin. Gegenüber Clindamycin wiesen 21% der Isolate eine reduzierte Empfindlichkeit auf und 36% zeigten eine hochgradige Resistenz (n=19). Gegenüber dem Fluorochinolon Moxifloxacin zeigten 45% der Isolate eine deutliche Resistenz. Von 18 getesteten Isolaten vom PCR-RT027 wiesen 18 (100%) eine in vitro Resistenz gegenüber Moxifloxacin auf. Bei 15 % der getesteten 53 Isolate und bei 44% der getesteten 18 Isolate des RT 027 ließ sich eine Resistenz gegenüber Rifampicin und Rifaximin nachweisen (Abbildungen 5 und 6).

Tabelle 2. Cut-off-Werte der Nationalen Referenzzentrale für *Clostridium difficile* (MHK = minimale Hemmkonzentration; HH = Hemmhofdurchmesser)

Substanz	MHK (µg/ml)			HH (mm)		
	Resistent (R) µg/ml	Intermediär (I) µg/ml	Sensibel (S) µg/ml	Resistent (R) mm	Intermediär (I) mm	Sensibel (S) mm
Metronidazol*	> 2	-	≤ 2			
Vancomycin*	> 2	-	≤ 2			
Clindamycin**	≥ 8	4	≤ 2			
Moxifloxacin**	≥ 8	4	≤ 2			
Rifampicin***	≥ 32	0,012-16	≤ 0,006			
Rifaximin (40µg)***				< 38	-	≥ 38

* Interpretation: nach EUCAST – Kriterien

** Interpretation: nach CLSI - Kriterien

*** Interpretation nach Huhulescu *et al.* [16]

Abbildung 5: Ergebnisse der in vitro Empfindlichkeitstestung von 53 *C. difficile*-Isolaten. R: resistent; I: intermediär; S: sensibel

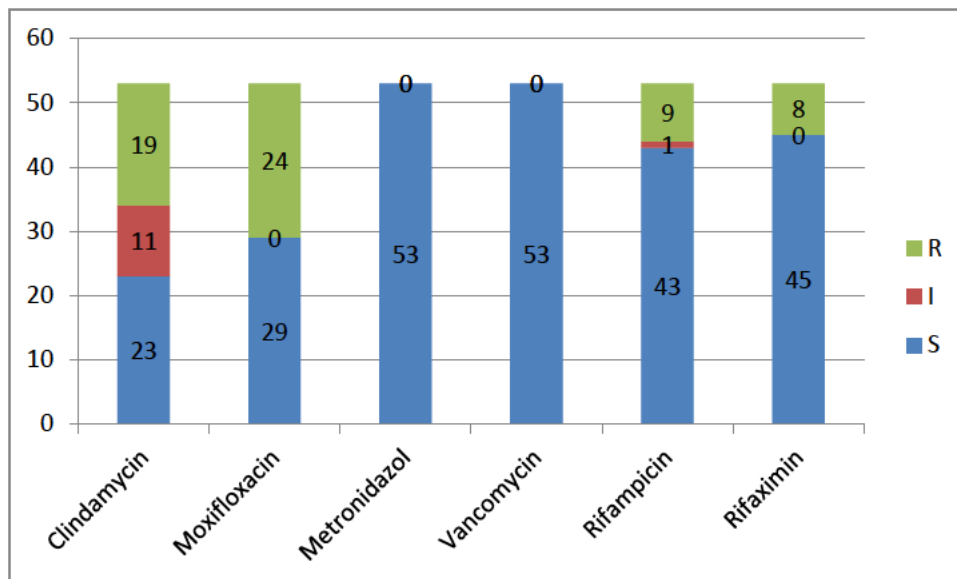


Abbildung 6: Prozentueller Anteil der Ergebnisse der in vitro Resistenztestung von *C. difficile* Isolaten des Jahres 2012 (n=212), 2013 (n=166), 2014 (n=58) 2015 (n=54) und 2016 (n=53) auf sechs Antibiotika



Bei 52 der 57 in der Referenzzentrale untersuchten Proben konnten auch Daten zu den *C. difficile*-assoziierten Krankheitssymptomen ausgewertet werden. Risikofaktoren wie Antibiotikagabe wurden bei sechs PatientInnen gemeldet. In zwei Fällen wurde über eine Antazidum-Gabe berichtet. Das häufigste Symptom war

Durchfall in 23 Fällen; schwere Verläufe von CDI wurden in 26 Fällen (46%) mitgeteilt.

Eine CDI ist laut Epidemiegesetz dann als schwer zu werten, wenn mindestens eines der folgenden Kriterien erfüllt ist: 1. wenn es sich um eine *C. difficile* (CD) assoziierte Erkrankung handelt, die intensivmedizinischer Behandlung bedarf oder 2. wenn eine CD assoziierte Erkrankung vorliegt, die aufgrund damit verbundener Komplikationen, wie Darmperforation oder therapierefraktärer Kolitis, chirurgischer Behandlung bedarf oder 3. eine CD assoziierte Erkrankung mit letalem Ausgang, wobei die Erkrankung in direktem oder indirektem kausalem Zusammenhang mit dem letalen Ausgang stehen kann. Vier PatientInnen bedurften einer intensivmedizinischen Behandlung, in zwei Fällen wurde eine Peritonitis, in einem Fall eine pseudomembranöse Kolitis und bei einem Patienten ein toxisches Megakolon diagnostiziert. Sechs Fälle wurden als nosokomial erworben klassifiziert. Vier PatientInnen verstarben.

Laut Epidemiologischen Meldesystem (Quelle: vorläufiger Jahresbericht 2016 vom 20.01.2017) verstarben infolge einer *C. difficile* Infektion 26 PatientInnen, was bei 475 gemeldeten Fällen eine Letalität von 5% ergäbe.

Diskussion

Auch im Jahr 2016 fand sich ein hoher Anteil von Proben mit PCR-Ribotyp 027: 34% der an die Referenzzentrale übersandten Isolate und Stuhlproben. In den sechs Jahren davor schwankte dieser Anteil zw. 24%-80% (Abbildung 4). Die meisten 027-Isolate kamen aus Wien (n=13). Dieser noch immer hohe Anteil von 027 in Österreich ist besorgniserregend, da eine inhärente Fluorochinolon-Resistenz (100% der 18 getesteten Isolate) die Weiterverbreitung dieses sog. hypervirulenten Klon, der in Österreich erstmalig im Jahr 2006 nachgewiesen wurde, begünstigt [17]. Von den non-027 Isolaten wiesen in vitro nur 15% eine Moxifloxacin-Resistenz auf. Von 53 typisierten Isolaten wurden 30 (57%) als positiv für das binäre Toxin getestet; 73% von diesen wiesen in vitro eine hochgradige Resistenz gegenüber Moxifloxacin auf, während in der Gruppe der binär-Toxin-negativen Isolate, eine solche Resistenz lediglich bei 9% (n=2) der Stämme nachzuweisen war.

Während die erste Einschleppung nach Tirol auf einen Einzelfall beschränkt blieb, resultierte das Auftreten in Wien in einem offensichtlich noch immer nicht beherrschten Ausbruch [17-19]. *Clostridium difficile*-Ausbrüche sind schwer beherrschbar und zeigen eine hohe Neigung für Übertragungen auf weitere Abteilungen und Spitäler [20-22]. In Ostösterreich war in den Jahren vor 2011 PCR-Ribotyp 053 der dominante Ribotyp; im Jahr 2011 wurde 053 nur noch bei 7 und im Jahr 2012 bei 8 Einsendungen festgestellt. Im Jahr 2013 war dieser Ribotyp in keiner der Einsendungen mehr, im Jahr 2014 nur in einer Einsendung und im Jahr 2015 in drei Einsendungen nachweisbar. Im Jahr 2016 wurde der Ribotyp 053 in keiner Einsendung nachgewiesen. Auffällig war auch der (scheinbare) Rückgang der PCR Ribotypen 001 und 014, die ebenfalls in den letzten Jahren zu den häufigsten isolierten Ribotypen gezählt hatten. Vor allem Ribotyp 014 wurde in den letzten Jahren europaweit als am häufigsten isolierter Ribotyp beschrieben [22]. Der häufige Nachweis vom binären Toxin (57% aller in der Referenzzentrale getesteten Isolate), könnte jedoch eine Vorselektion durch vor Ort oft angewendete molekularbiologische Testsysteme (und somit kein konkretes Ausbruchsgeschehen) widerspiegeln.

Wie in den vorangegangenen vier Jahren, bleibt die hohe Resistenzrate gegenüber Fluorochinolonen bestehen (Abbildung 6). Die in vitro Resistenzrate bei Rifaximin/Rifampicin ist etwas niedriger als im Vorjahr (15% versus 19% im Vorjahr) und betraf fast ausschließlich den Ribotyp 027 (9 von 18).

Im Jahr 2016 wurden bei 57 Einsendungen an die Referenzzentrale vier (7%) tödlich verlaufene Erkrankungen mitgeteilt, um vier Fälle weniger als im Vorjahr. Aus den Diagnosen- und Leistungsberichten der österreichischen Krankenanstalten ergibt sich jedoch für das Jahr 2015 eine Anzahl von 6790 Erkrankungen und 350 Todesfällen mit dem Haupt-oder Zusatzdiagnose: ICD 10: A04.7- Enterokolitis durch *Clostridium difficile*.

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, wobei CDI in 40% dieser Todesfälle ursächlich oder mitursächlich war, was eine CDI-bedingte Letalität von 8,7% bedeutet [17]. Das Robert Koch Institut (RKI) berichtet über einen deutlichen Anstieg der Inzidenz der CDI-Fälle mit einem schweren Verlauf. „Die Zahl der jährlich in Deutschland gemeldeten *Clostridium-difficile*-Infektionen (CDI) hat sich zwischen 2008 und 2013 von 626 auf 1715 fast verdreifacht“ [23]. Die regionale Inzidenz dieser Fälle lag zw. 0,7 (Saarland) und 2,9 (Sachsen-Anhalt) pro 100 000 EinwohnerInnen. Die durchschnittliche Inzidenz war 1,4/100 000. Aufgrund zunehmender Verbreitung von CDI und für die Optimierung der Meldepflicht zum Zwecke frühzeitiger Erkennung und Abklärung von Ausbrüchen, wurde im Jahr 2016 die RKI-Falldefinition für schwerverlaufende *C. difficile*-Erkrankungen angepasst. Zusätzlich zu den im österr. Epidemiegesetz benannten Kriterien wurde auch die Aufnahme in eine medizinische Einrichtung zur Behandlung einer ambulant erworbenen *Clostridium-difficile*-Erkrankung aufgenommen [24]. Als ambulant erworben wird eine Erkrankung definiert, derer Symptomatik vor oder am Tag der stationären Aufnahme oder dem darauffolgenden Tag beginnt und wenn kein Aufenthalt in einer medizinischen Einrichtung innerhalb der 12 Wochen vor Symptombeginn stattgefunden hat [24]. 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%) [25,26]. Von 1. Jänner bis 31. Dezember 2012 wurden im Rahmen einer retrospektiven Kohortenstudie im Allgemeinen Krankenhaus der Stadt Wien – Medizinische Universitätsklinik alle mikrobiologisch gesicherten *C. difficile* Toxin positive Fälle eingeschlossen, ribotypisiert und ihr klinischer Verlauf analysiert; die 30-Tage-Gesamtsterblichkeit betrug 13% [27].

Somit scheinen sich die Angaben der Referenzzentrale als grober Parameter zur Abschätzung des CDI-Sterblichkeit-Trends zu eignen.

Als Indikator für die Qualität der *C. difficile*-Diagnostik in Österreich wird ab Jahr 2015 die Anzahl der durchgeführten Untersuchungen auf CD und die Krankenhaus-Belagstage. Eine via Nationale Referenzzentrale für nosokomiale Infektionen durchgeführte Anfrage an 51 Krankenanstalten ergab für das Jahr 2015 ein Mittelwert von 5,39 CD-Testutilisationen pro 1000 Patiententage in 21 teilnehmenden Krankenanstalten (Spannweite: 0-34,9/1000). Im Jahr 2016 betrug der Mittelwert

5,83 CD-Testutilisierungen pro 1000 Patiententage in 22 teilnehmenden Krankenanstalten (Spannweite: 0-16,3/1000) [Stand 22.02.2017].

Danksagung

Wir bedanken uns bei folgenden Einsendern:

Labor Dr. Breuer Wien; Pathologisch-bakteriologisches Institut Kaiser Franz Josef Krankenhaus Wien; Unfallkrankenhaus Lorenz-Böhler Wien; Institut für Labordiagnostik und Mikrobiologie Klinikum Klagenfurt; Institut für Pathologie Feldkirch; Institut für Pathologie LKH Villach; Institut für Pathologie/Mikrobiologie Labor Dr. Mustafa/Dr. Richter Salzburg; Pathologie und Mikrobiologie – Kardinal Schwarzenberg'sches Krankenhaus; Sektion für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie Med. Univ. Innsbruck; Klinische Pathologie Landesklinikum Baden-Mödling; LABCON-Medizinische Laboratorien GmbH Wien; Zentrallabor Krankenhaus der Barmherzigen Brüder St. Veit/Glan; Institut für Pathologie Landesklinikum Wiener Neustadt; Institut für Pathologie Landesklinikum Horn; Institut für Pathologie/Mikrobiologie Salzkammergut-Klinikum; Institut für Hygiene, Mikrobiologie und Umweltmedizin Graz.

Literatur

- [1] Lawson PA, Citron DM, Tyrrell KL, SM Findgold Reclassification of *Clostridium difficile* as *Clostridioides difficile* (Hall and O'Toole 1935) Prévot 1938. *Anaerobe* 2016 (Aug.) 40: 95–99
- [2] 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
- [3] 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.
- [4] Allerberger F, C. Högenauer C. (2017) *Clostridium difficile*-Infektion: Eine Übersicht. *tägliche praxis* 58 (2): 249-258
- [5] 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.
- [6] Hell M, Sickau K, Chmelizek G, Kern JM, Maass M, Huhulescu S, Allerberger F (2012) Absence of Clostridium difficile in asymptomatic hospital staff. *AJIC*
- [7] 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.
- [8] Khanna S, Baddour LM, Huskins WC, Kammer PP, Faubion WA, Zinsmeister AR, Harmsen WS, Pardi DS. The epidemiology of *Clostridium difficile* infection in children: a population-based study. *Clin Infect Dis.* 2013 May;56(10):1401-6. doi: 10.1093/cid/cit075. Epub 2013 Feb 13.
- [9] Spina AF, et al. Abstract ECCMID 2015; OS37
- [10] 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.

- [11] 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
- [12] Shelley S. Magill, M.D., Ph.D., Jonathan R. Edwards, M.Stat., Wendy Bamberg, M.D., Zintars G. Beldavs, M.S., Ghinwa Dumyati, M.D., Marion A. Kainer, M.B., B.S., M.P.H., Ruth Lynfield, M.D., Meghan Maloney, M.P.H., Laura McAllister-Hollod, M.P.H., Joelle Nadle, M.P.H., Susan M. Ray, M.D., Deborah L. Thompson, M.D., M.S.P.H., Lucy E. Wilson, M.D., and Scott K. Fridkin, M.D., for the Emerging Infections Program Healthcare-Associated Infections and Antimicrobial Use Prevalence Survey Team *N Engl J Med* 2014; 370:1198-1208
- [13] ECDC surveillance report Point prevalence survey of healthcare associated infections and antimicrobial use in European acute care hospitals 2011–2012. <http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/publications/healthcare-associated-infections-antimicrobial-use-pps.pdf>
- [14] 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/BGBLA_2010_II_19.html
- [15] Bundesministerium für Gesundheit – Monatliche Statistik meldepflichtiger übertragbarer Infektionskrankheiten 2016 (in Druck) <http://www.bmg.gv.at/cms/home/standard.html?channel=CH1447&doc=CMS1392987697791>
- [16] Huhulescu S, Sagel U, Fiedler A, Pecavar V, Blaschitz M, Wewalka G, Allerberger F, Indra A. Rifaximin disc diffusion test for in vitro susceptibility testing of *Clostridium difficile*. *J Med Microbiol* 2011;60(8):1206-1212.
- [17] 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
- [18] 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
- [19] 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
- [20] 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.
- [21] 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>
- [22] 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 (2011) Clostridium difficile infection in Europe: a hospital-based survey. *Lancet* 377(9759):63-73
- [23] Robert-Koch-Institut; Epidemiologisches Bulletin 27/2014; http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2014/Ausgaben/27_14.pdf?blob=publicationFile

[24] Robert-Koch-Institut; Epidemiologisches Bulletin 16/2016;
www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2016/Ausgaben/16_16.html

[25] 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

[26] 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

[27] Starzengruber P, Lusignani LS, Wrba T, Mitteregger D, Indra A, Graninger W, Presterl E, Diab-Elschahawi M (2014) Severe Clostridium difficile-Infection: incidence and risk factors at a tertiary care university hospital in Vienna, Austria. *Wiener Klin Wochenschrift* 126:427-430