

Nationale Referenzzentrale für *Clostridium difficile*

Jahresbericht 2015

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 2015 wurden an die österreichische Referenzzentrale für *Clostridium difficile* 63 Einsendungen übermittelt (33 Kulturoisolate und 30 Stuhlproben). In das epidemiologische Meldesystem (EMS) wurden 524 Fälle eingemeldet, aber nur in 63 davon wurden die Isolate/Probenmaterial an die Referenzzentrale eingesandt. Der PCR-Ribotyp 027 fand sich bei 13 (24%) der 54 typisierten Isolate des Jahres 2015. Im Jahr 2015 wurden der Referenzzentrale 8 tödlich verlaufene *C. difficile*-Infektionen bekannt. Die in vitro-Resistenztestung von 54 Isolaten mittels E-Test zeigte, dass 43% gegenüber Moxifloxacin nicht empfindlich waren, 19% waren gegenüber Rifaximin resistent.

Summary

In the year 2015 a total of 63 samples (30 stool samples and 33 culture isolates) were sent to the Austrian National Reference centre for *Clostridium difficile*. PCR-ribotype 027 accounted for 13 (24%) of the 54 isolates typed. Fatal outcome was reported for 8 cases. In vitro-susceptibility testing using Epsilon-tests was performed on 54 isolates; 43% were not susceptible to moxifloxacin and 19% resistant to rifaximin.

Einleitung

Clostridium 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 in aquatischem Milieu) über längere Zeit überdauern kann [1,2]. Es gilt seit langem als Erreger der pseudomembranösen Kolitis. Zu Beginn des neuen Millenniums wurde ein Anstieg der Prävalenz und des klinischen Schweregrades der *Clostridium difficile*-Infektion (CDI), sowie ein vermehrtes Vorkommen der sogenannten hochvirulenten Ribotypen 027 und 078 registriert. Diese *Clostridium difficile*-Stämme besitzen die Fähigkeit, ein Mehrfaches an Toxin A oder B zu bilden sowie auch das sog. 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 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 [5]. *Clostridium difficile*-Infektion ist die häufigste bakterielle Ursache der nosokomialen Gastroenteritis. In den letzten Jahren wird über die Inzidenzzunahme der CDI auch im ambulanten Bereich, sowie bei den Gruppen, die früher mit einem geringen Risiko behaftet waren, wie etwa Kindern berichtet [6]. 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 *Clostridium difficile* besiedelt ins Krankenhaus kommen, zeigen ein deutlich niedrigeres Risiko an CDI zu erkranken als Personen, die im Krankenhaus *Clostridium difficile*-Sporen aufnehmen. Die Rolle von tierischen Lebensmitteln als Quelle von CDI wird kontrovers diskutiert [7,8]. Infektionen mit *Clostridium difficile* werden von den US-amerikanischen Centres for Disease Control and Prevention (CDC) als die derzeit wichtigste Resistenz-Bedrohung eingestuft, noch vor den Carbapenemase-bildenden Enterobakterien. Die 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 [9].

Ergebnisse

Im Jahr 2015 wurden 63 *Clostridium difficile*-Proben an die Referenzzentrale gesandt; 33 waren Reinkulturen und 30 waren native Stuhlproben. Davon stammen 41 von weiblichen und 22 Einsendungen von männlichen Patienten. Die meisten Einsendungen kamen aus Wien ($n=37$). Ein Vergleich mit den im EMS gemeldeten Fällen [20] 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. *Clostridium difficile* war bei 9 Einsendungen (5 Stuhleinsendungen und 4 Kultureinsendungen) nicht kultivierbar. Der am häufigsten isolierte PCR-Ribotyp war der als hypervirulenter Stamm bezeichnete PCR-Ribotyp 027, mit 13 Isolaten (12 Isolate aus Wien und ein Isolat aus Vorarlberg), gefolgt von Ribotyp 001, 014/0 mit jeweils vier Isolaten (Abbildung 2). Eine prozentuelle Darstellung der Ribotypenverteilung der Jahre 2008-2015 findet sich in der Abbildung 3.

Tabelle 1: Herkunft der 63 *Clostridium difficile*-Proben nach Bundesländern verglichen mit den im EMS für 2015 gemeldeten Daten (n=524)

Bundesland	Anzahl Proben Referenzzentrale	Anzahl EMS-Meldungen ^a
Wien	37	254
Niederösterreich	3	76
Burgenland	0	15
Salzburg	10	74
Kärnten	4	5
Vorarlberg	4	11
Steiermark	1	9
Tirol	2	3
Oberösterreich	2	77

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

Abbildung 1: Altersverteilung der PatientInnen von denen im Jahr 2015 *C. difficile*-Proben an die nationale Referenzzentrale eingesandt wurden (n=63).

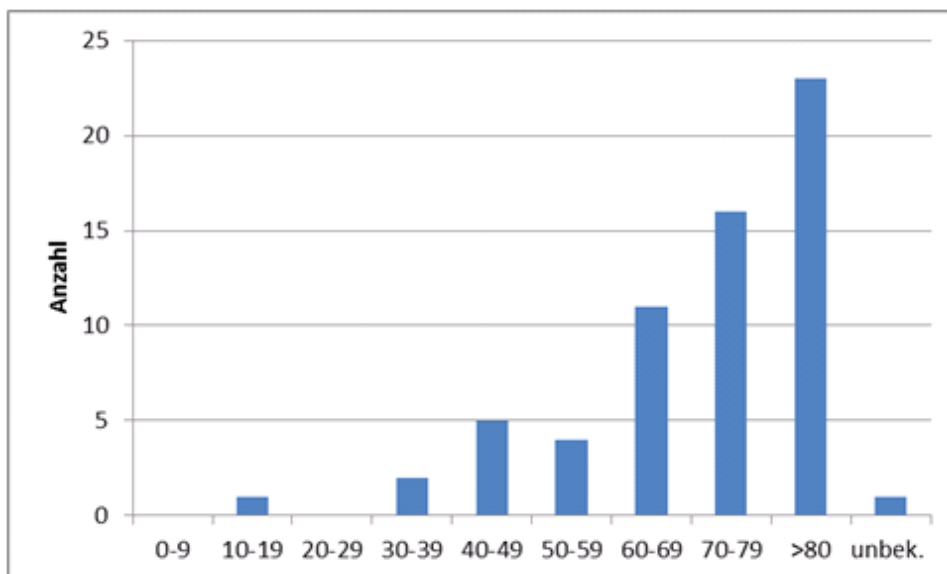


Abbildung 2: Anzahl der in der Referenzzentrale im Jahr 2015 mittels PCR-Ribotyping typisierten *Clostridium difficile*-Isolate (n=54). Binär-Toxin positive Ribotypen sind mit roter Farbe hervorgehoben.

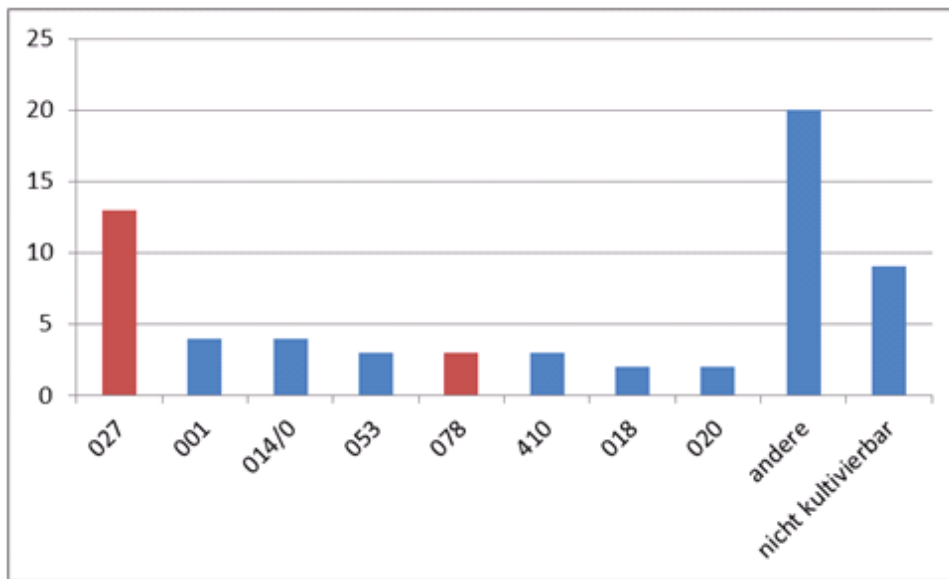
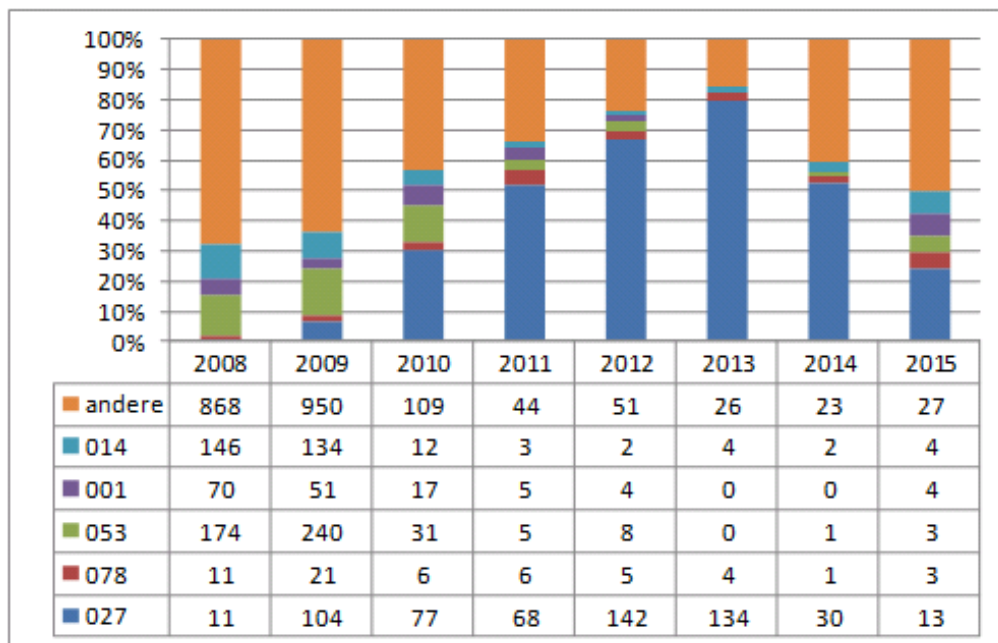


Abbildung 3: Prozentueller Anteil der am häufigsten vorkommenden Ribotypen, die in den Jahren 2008-2015 mittels PCR-Ribotyping an der Nationalen Referenzzentrale festgestellt wurden



Mittels E-Test wurde die Empfindlichkeit gegenüber fünf Antibiotika bei 54 Isolaten bestimmt. Getestet wurden derartig: 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 37% der Isolate eine reduzierte Empfindlichkeit auf und 37% zeigten eine hochgradige Resistenz (n=20). Gegenüber

dem Fluorochinolon Moxifloxacin zeigten 43% der Isolate eine deutliche Resistenz. Von 13 getesteten Isolaten vom PCR-RT027 wiesen 13 (100%) eine in vitro Resistenz gegenüber Moxifloxacin auf. Bei 19 % der getesteten 54 Isolate und bei 62% der getesteten 13 Isolate des RT 027 ließ sich eine Resistenz gegenüber Rifampicin und Rifaximin nachweisen (Abbildungen 4 und 5).

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
<i>Metronidazol</i> *	> 2	-	≤ 2			
<i>Vancomycin</i> *	> 2	-	≤ 2			
<i>Clindamycin</i> **	≥ 8	4	≤ 2			
<i>Moxifloxacin</i> **	≥ 8	4	≤ 2			
<i>Rifampicin</i> ***	≥ 32	0,012-16	≤ 0,006			
<i>Rifaximin (40µg)</i> ***				< 38	-	≥ 38

* Interpretation: nach EUCAST – Kriterien

** Interpretation: nach CLSI - Kriterien

*** Interpretation nach Huhulescu *et al.* [10]

Abbildung 4: Ergebnisse der in vitro Empfindlichkeitstestung von 54 *C. difficile*-Isolaten. R: resistent; I: intermediär; S: sensibel

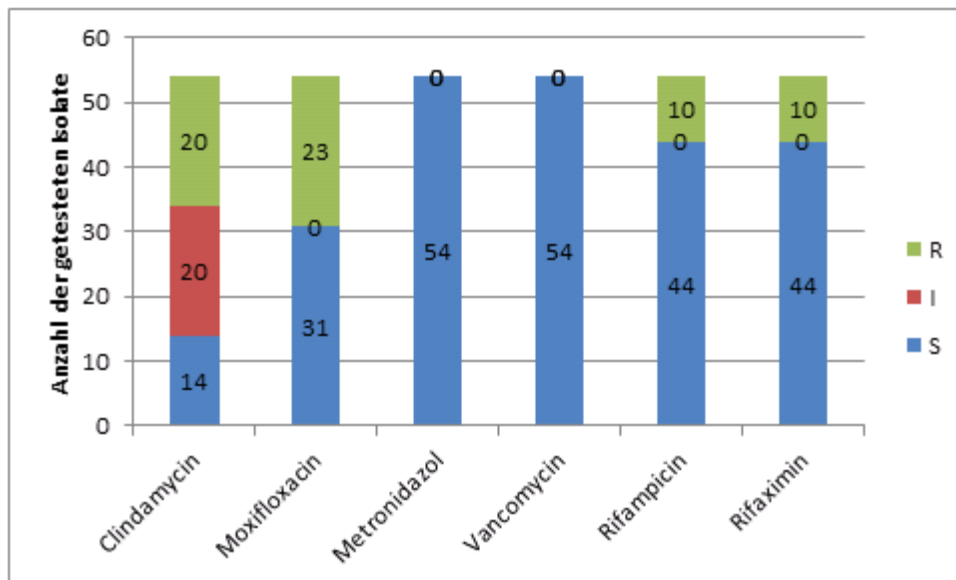
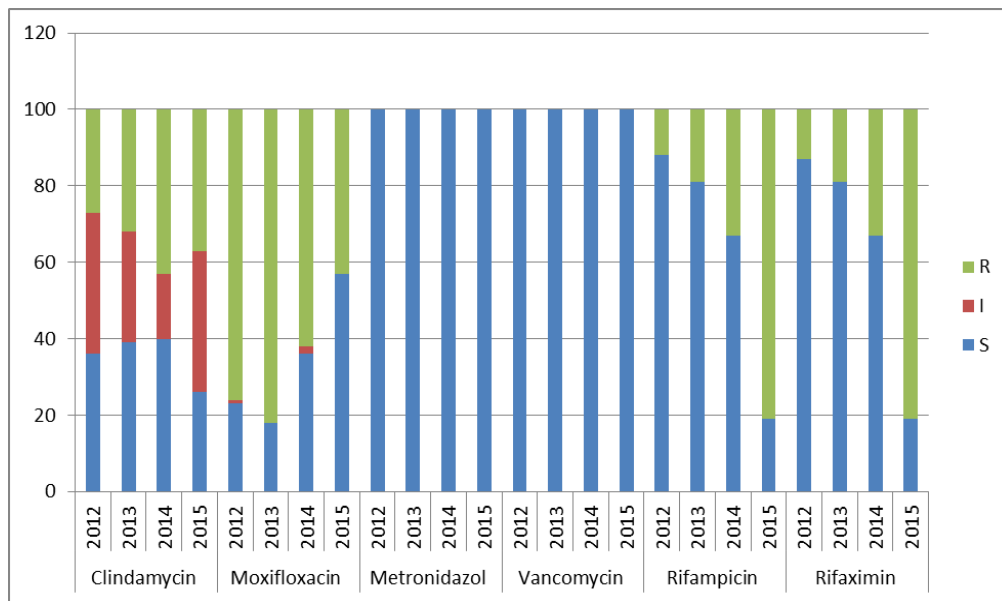


Abbildung 5: Prozentueller Anteil der Ergebnisse der in vitro Resistenztestung von *C. difficile* Isolaten des Jahres 2012 (n=212), 2013 (n=166), 2014 (n=58) und 2015 (n=54) auf sechs Antibiotika



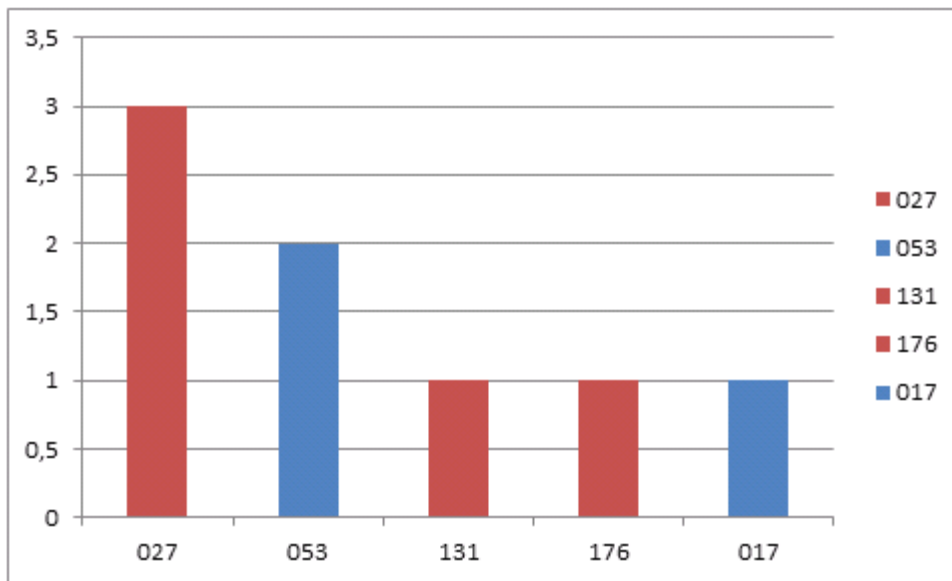
Bei 45 der 54 in der Referenzzentrale untersuchten Isolate konnten auch Daten zu den *C. difficile*-assoziierten Krankheitssymptomen ausgewertet werden.

Risikofaktoren wie Antibiotikagabe wurden bei 17 PatientInnen gemeldet. In sieben Fällen wurde über eine Antazidum-Gabe berichtet. Das häufigste Symptom war Durchfall in 35 Fällen, schwere Verläufe von CDI wurden in 22 Fällen (41%) 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 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. Fünf PatientInnen bedurften einer intensivmedizinischen Behandlung, in zwei Fällen wurde eine Darmperforation und in weiteren zwei Fällen eine pseudomembranöse Kolitis diagnostiziert und bei einem Patienten eine Kolektomie durchgeführt. Ein toxisches Megakolon wurde in zwei Fällen dokumentiert. Acht PatientInnen verstarben. Dreizehn Fälle wurden als nosokomial erworben und vier weitere als Rezidiv klassifiziert.

Ribotyp 027 wurde bei 3 verstorbenen PatientInnen isoliert, gefolgt von RT 053 (n=2), 131 (n=1), 176 (n=1) und 017 (n=1) (

Abbildung 6). Laut Epidemiologischen Meldesystem (Quelle: vorläufiger Jahresbericht 2015 vom 10.02.2016) verstarben infolge einer *C. difficile* Infektion 42 PatientInnen, was bei 524 gemeldeten Fällen eine Letalität von 8% ergäbe.

Abbildung 6: Anzahl der in der Referenzzentrale im Jahr 2015 mittels PCR-Ribotyping typisierten *Clostridium difficile*-Isolate der 6 verstorbenen PatientInnen. Binär-Toxin positive Ribotypen sind mit roter Farbe hervorgehoben.



Diskussion

Im Jahr 2015 fand sich im Vergleich zu den vier Vorjahren ein geringerer Anteil von PCR-Ribotyp 027 (24% der an die Referenzzentrale übersandten Isolate und Stuhlproben gegenüber 30%-80% in den vier Jahren davor; Abbildung 3). Die meisten Isolate kamen aus Wien (n=12). Dieser noch immer höhere Anteil von 027 in Österreich ist besorgniserregend, da eine inhärente Fluorochinolon-Resistenz (100% der 13 getesteten Isolate) die Weiterverbreitung dieses sog. hypervirulenten Klon, der in Österreich erstmalig im Jahr 2006 nachgewiesen wurde, begünstigt [11]. Nur 24% der non-027 Isolate wiesen in vitro eine Moxifloxacin-Resistenz auf. Während die erste Einschleppung nach Tirol auf einen Einzelfall beschränkt blieb, resultierte das Auftreten in Wien in einem offensichtlich noch immer nicht beherrschten Ausbruch [11-13]. *Clostridium difficile*-Ausbrüche sind schwer beherrschbar und zeigen eine hohe Neigung für Übertragungen auf weitere Abteilungen und Spitäler [14-16]. 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. 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 [16]. Unter den zehn häufigsten in den Jahren 2013-2015 an der nationale Referenzzentrale gefundenen Ribotypen finden sich sechs Ribotypen mit einem positiven Nachweis vom binären Toxin, was jedoch eine Vorselektion durch die vor Ort angewendeten molekularbiologischer Testsysteme (und somit kein konkretes Ausbruchsgeschehen) widerspiegeln könnte.

Wie in den vorangegangenen drei Jahren, bleibt die hohe Resistenzrate gegenüber Fluorochinolonen bestehen (Abbildung 5). Die in vitro Resistenzrate bei Rifaximin/Rifampicin ist etwas niedriger als im Vorjahr (19% versus 33% im Vorjahr) und betraf fast ausschließlich den Ribotyp 027 (8 von 13). Im Jahr 2015 wurden bei 63 Einsendungen an die Referenzzentrale acht (13%) tödlich verlaufene Erkrankungen mitgeteilt, um 2 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, wobei CDI in 40% dieser Todesfälle ursächlich oder mitursächlich war, was eine CDI-bedingte Letalität von 8,7% bedeutet [16]. 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“* [17]. 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. 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%) [18,19]. 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% [21]. 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 KA Rudolfstiftung Wien; Institut für Pathologie Mikrobiologisches Labor LKH Leoben; Labor Dr. Breuer Wien; Pathologisch-bakteriologisches Institut Kaiser Franz Josef Wien; Pathologisch-bakteriologisches Institut Sozialmedizinisches Zentrum Ost 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; Institut für Hygiene und Mikrobiologie Klinikum Wels Grieskirchen; Sektion für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie Med. Univ. Innsbruck; Bakteriologisches Labor SMZ Baumgartner Höhe Wien; Labor Dr. Breuer Wien; Klinische Pathologie Landeskrankenhaus Baden-Mödling; Klinische Pathologie, Mikrobiologie und Infektionsdiagnostik KH der Barmherzigen Schwestern Ried.

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.
- [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*
- [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] 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.
- [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] 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
- [9] 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
- [10] 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.

- [11] 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
- [12] 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
- [13] 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
- [14] 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.
- [15] 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>
- [16] 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
- [17] Robert-Koch-Institut; Epidemiologisches Bulletin 27/2014; http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2014/Ausgaben/27_14.pdf?__blob=publicationFile
- [18] 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
- [19] 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
- [20] Bundesministerium für Gesundheit – Monatliche Statistik meldepflichtiger übertragbarer Infektionskrankheiten 2014 (zuletzt abgefragt 26.02.2015)

<http://www.bmg.gv.at/cms/home/standard.html?channel=CH1447&doc=CMS1392987697791>

[21] 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