

Nationale Referenzzentrale für Clostridium difficile

Jahresbericht 2013

Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit
Institut für medizinische Mikrobiologie und Hygiene
A-1096 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 2013 wurden an die österreichische Referenzzentrale für Clostridium difficile 193 Einsendungen übermittelt, 147 davon waren Reinkulturen und 46 waren Stuhlproben. Der PCR-Ribotyp 027 fand sich bei 134 (80 %) der 168 typisierten Isolate des Jahres 2013. Diese Isolate zeigten eine sehr hohe molekularbiologische Verwandtschaft zu dem in den Jahren 2008-2009 erstmals beschriebenen Wiener PCR-Ribotyp 027-Ausbruchsstamm. Im Jahr 2013 wurden der Referenzzentrale 16 tödlich verlaufene C. difficile-Infektionen bekannt. Die in vitro-Resistenztestung von 166 Isolaten mittels E-Test zeigte, dass 82 % gegenüber Moxifloxacin nicht empfindlich waren, 19 % waren gegenüber Rifaximin resistent.

Summary

In the year 2013 a total of 193 samples (46 stool samples and 147 culture isolates) were sent to the Austrian National Reference centre for Clostridium difficile. PCR-ribotype 027 accounted for 134 (80 %) of the 168 isolates typed. The PCR-ribotype 027 isolates of 2013 proved to be closely related with a strain initially described during an outbreak in Vienna in 2008-2009. Fatal outcome was reported for 16 cases. In vitro-susceptibility testing using Epsilon-tests was performed on 166 isolates; 82 % 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 der *Clostridium difficile*-Infektion (CDI), dessen Schweregrades 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 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 in Einzelfällen 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 [6,7]. 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].

Ergebnisse

Im Jahr 2013 wurden 193 *Clostridium difficile*-Proben an die Referenzzentrale gesandt; 147 waren Reinkulturen und 46 waren native Stuhlproben. Davon stammen 113 von weiblichen und 80 Einsendungen von männlichen Patienten. Die meisten Einsendungen kamen aus Wien (n=138). Ein Vergleich mit den im EMS gemeldeten Fällen [18] ist in der Tabelle 1 dargestellt. Eine Berechnung der Jahresinzidenzen war weder für Österreich noch für die einzelnen Bundesländer zielführend. Abbildung 1 spiegelt für die Einsendungen die Altersverteilung der Patientinnen und Patienten wider. *Clostridium difficile* war in 25 Einsendungen (16 Stuhleinsendungen und 9 Kultureinsendungen) nicht kultivierbar. Der am häufigsten isolierte PCR-Ribotyp war der als hypervirulenter Stamm bezeichnete PCR-Ribotyp 027, mit 134 Isolaten (n=112 aus Wien, elf Isolate aus Niederösterreich, neun Isolate aus dem Burgenland und zwei Isolate aus Salzburg) gefolgt von Ribotyp 078 und 014/0 mit jeweils vier Isolaten, 023 und AI-83 mit jeweils drei Isolaten, und 070 und 670 mit jeweils zwei Isolaten (Abbildung 2).

Tabelle 1: Herkunft der 193 Clostridium difficile-Proben nach Bundesländern verglichen mit den im EMS gemeldeten Daten betreffend schwerer CDI-Verläufe (n=279)

Bundesland	Anzahl Proben Referenzzentrale	Anzahl EMS-Meldungen
Wien	138	90
Niederösterreich	24	126
Burgenland	13	9
Salzburg	8	11
Kärnten	6	9
Vorarlberg	2	8
Steiermark	1	15
Tirol	1	3
Oberösterreich	0	8

Abbildung 1: Altersverteilung der Patientinnen und Patienten von denen im Jahr 2013 C. difficile-Proben an die nationale Referenzzentrale eingesandt wurden.

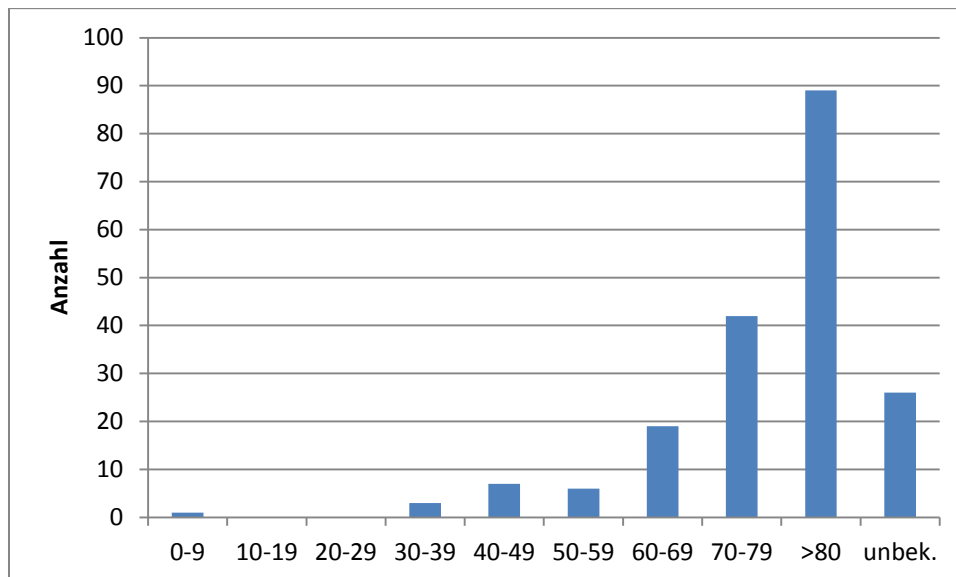
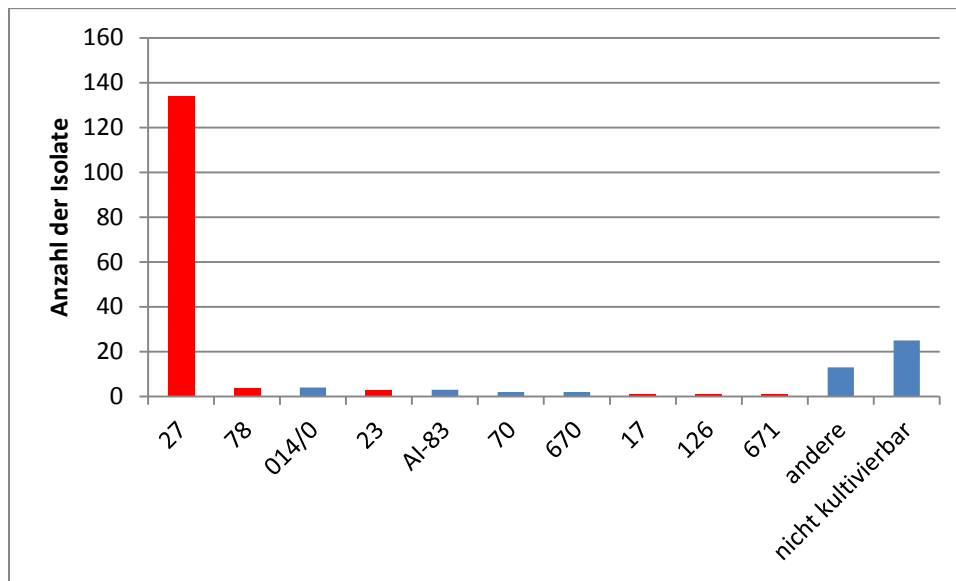


Abbildung 2: Anzahl der in der Referenzzentrale im Jahr 2013 mittels PCR-Ribotyping typisierten Clostridium difficile-Isolate (n =168). Binär-Toxin positive Ribotypen sind mit roter Farbe hervorgehoben.



Die Empfindlichkeit gegenüber Antibiotika wurde mittels E-Test für vier Antibiotika bei 166 Isolaten bestimmt. Getestet wurden: Metronidazol, Vancomycin, Clindamycin und Moxifloxacin. Für 165 Isolate wurden weitere zwei Antibiotika getestet: Rifampicin, mittels E-Test und Rifaximin mittels Diskdiffusionstest. Die Interpretationskriterien sind in der Tabelle 2 aufgelistet. Alle Isolate waren in vitro empfindlich gegenüber Metronidazol und Vancomycin. Gegenüber Clindamycin wiesen 61 % der Isolate eine reduzierte Empfindlichkeit auf und 82 % zeigten eine hochgradige Resistenz (n=136) gegenüber dem Fluorochinolon. Dieses Ergebnis spiegelt den hohen Anteil von Ribotyp 027 bei den getesteten Isolaten wider. Von 134 getesteten Isolaten der PCR-RT027 wiesen 131 (98 %) eine in vitro Resistenz gegenüber Moxifloxacin auf. Bei 19 % der getesteten 165 Isolate ließ sich eine Resistenz gegenüber Rifampicin und Rifaximin nachweisen (Abbildung 3).

Tabelle 2. Cut-off-Werte der Nationalen Referenzzentrale für Clostridium difficile

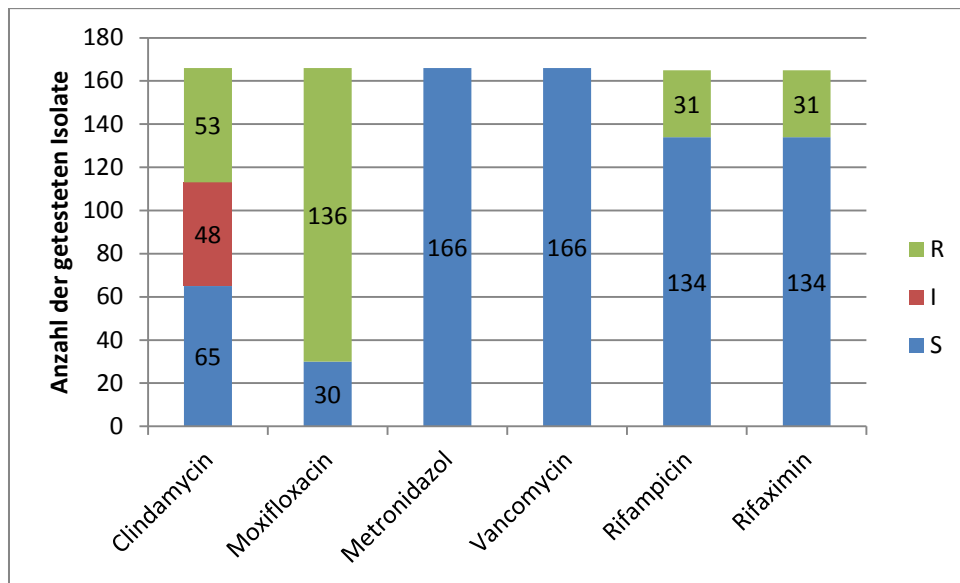
Substanz	MHK (µg/ml)			HH (mm)		
	Resistent (R) µg/ml	Intermediär (I) µg/ml	Sensibel (S) µg/ml	Resistent (R) mm	Intermediär (I) mm	Sensibel (S) mm
<i>Metronidazol</i> *	> 2	-	≤ 2			
<i>Vancomycin</i> *	> 2	-	≤ 2			
<i>Clindamycin</i> **	≥ 8	4	≤ 2			
<i>Moxifloxacin</i> **	≥ 8	4	≤ 2			
<i>Rifampicin</i>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

* Interpretation: nach EUCAST – Kriterien

** Interpretation: nach CLSI - Kriterien

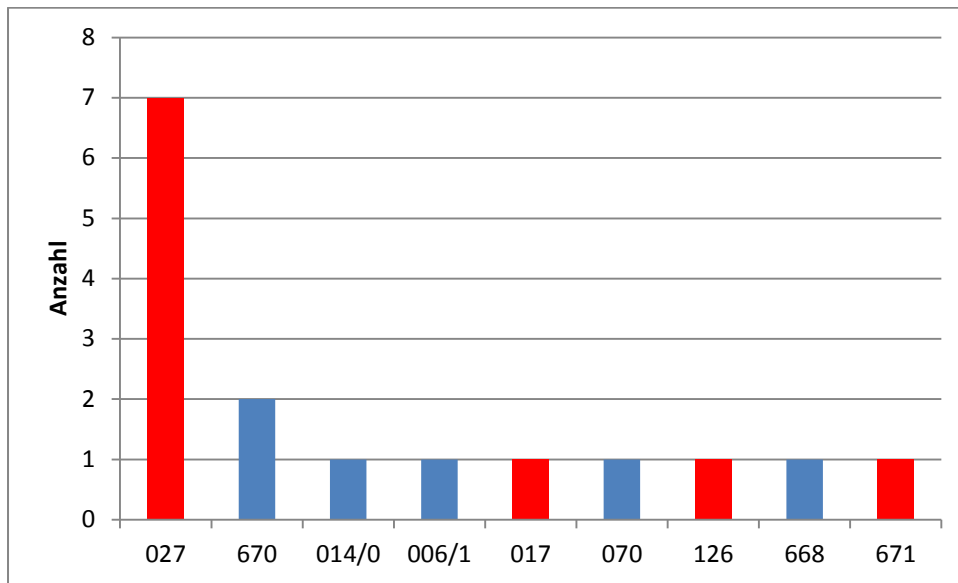
*** Interpretation nach Huhulescu *et al.* [9]

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



Bei 114 der 168 in der Referenzzentrale untersuchten Isolate konnten auch Daten zu den *C. difficile*-assoziierten Krankheitssymptomen ausgewertet werden. Risikofaktoren wie Antibiotikagabe wurden bei 28 und Antazidagabe bei 15 Patientinnen und Patienten gemeldet. Das häufigste Symptom war Durchfall in 92 Fällen, schwere Verläufe von CDI wurden in 20 Fällen 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. Ribotyp 027 wurde bei 7 verstorbenen Patientinnen bzw. Patienten isoliert, gefolgt von RT 670 (n=2), 014/0, 006/1, 017, 070, 126, 668 und 671 (Abbildung 4). Laut Epidemiologischen Meldesystem (Quelle: vorläufiger Jahresbericht 2013 vom 26.01.2014) verstarben infolge einer *C. difficile* Infektion 63 Patientinnen und Patienten, was bei 279 gemeldeten Fällen eine Letalität von 23 % ergäbe. Auch hier zeigte sich ein Unterschied zu den Meldungen an die Referenzzentrale.

Abbildung 4: Anzahl der in der Referenzzentrale im Jahr 2013 mittels PCR-Ribotyping typisierten Clostridium difficile-Isolate der 16 verstorbenen Patientinnen bzw. Patienten. Binär-Toxin positive Ribotypen sind mit roter Farbe hervorgehoben.



Diskussion

Im Jahr 2013 fand sich ein noch höherer Anteil von PCR-Ribotyp 027 (80 % der an die Referenzzentrale übersandten Isolate und Stuhlproben) als im Vorjahr (67 %). Dieser hohe Anteil resultiert vor allem aus Einsendungen aus Wien (n=112) und könnte durch die oftmals beschriebene Hypervirulenz verursacht sein, kann aber auch aus der in Wien weitverbreiteten Anwendung kommerzieller molekularbiologischer Testsysteme für ein Vorscreening auf Ribotyp 027 resultieren. Dieser drastische Anstieg von 027 in Österreich ist besorgniserregend, da eine inhärente Fluorochinolon-Resistenz (98 % der 134 getesteten Isolate) die Weiterverbreitung dieses sog. hypervirulenten Klons, der in Österreich erstmalig im Jahr 2006 nachgewiesen wurde, begünstigt [10]. Während die erste Einschleppung nach Tirol auf einen Einzelfall beschränkt blieb, resultierte das Auftreten in Wien in einem offensichtlich noch nicht beherrschten Ausbruch [10-12]. Clostridium difficile-Ausbrüche sind schwer beherrschbar und zeigen eine hohe Neigung für Übertragungen auf weitere Abteilungen und Spitäler [13-15]. In Ostösterreich war in den Jahren vor 2011 PCR-Ribotyp 053 der dominante Ribotyp; im Jahr 2011 wurde 053 nur mehr bei 7 und im Jahr 2012 bei 8 Einsendungen festgestellt. Im Jahr 2013 war dieser Ribotyp in keiner der Einsendungen mehr nachweisbar. 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 als am häufigsten isolierter Ribotyp beschrieben [15]. Unter den zehn häufigsten im Jahr 2013 an der nationale Referenzzentrale gefundenen Ribotypen finden sich sechs Ribotypen mit einem positiven Nachweis vom binären Toxin, was wiederum eine Vorselektion durch die vor Ort angewendeten molekularbiologischer Testsysteme oder eine konkretes

Ausbruchsgeschehen widerspiegeln könnte. Im Vergleich zum Vorjahr, als 77 % der Isolate eine Moxifloxacin-Resistenz aufwiesen, war die Fluorochinolon-Resistenz im Jahr 2013 bereits bei 82 % aller Isolate nachweisbar. Die in vitro Resistenzrate ist auch bei Rifaximin/Rifampicin angestiegen (19 % versus 13 %) und betraf fast ausschließlich den Ribotyp 027 (30 von 31). Im Jahr 2013 wurden bei 193 Einsendungen an die Referenzzentrale Isolate 16 (8 %) tödlich verlaufene Erkrankungen mitgeteilt, um 5 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 [15]. Wenisch et al. ermittelten für die Jahre 2008-2010 für ein Wiener Spital eine CDI-Fallsterblichkeit von 17 % (Fallsterblichkeit bei nicht-CDI-Patientinnen und nicht-CDI-Patienten: 6,7 %) [16,17]. Somit scheinen sich die Angaben der Referenzzentrale als grober Parameter zur Abschätzung des CDI-Sterblichkeit-Trends zu eignen.

Danksagung

Wir bedanken uns bei folgenden Einsenderinnen und Einsendern:
SALK Labor GmbH.; Pathologisch-bakteriologisches Institut Wilhelminenspital Wien;
Pathologisch-bakteriologisches Institut KA Rudolfstiftung Wien; Institut für Hygiene
und Mikrobiologie Innsbruck; Mikrobiologisches Labor LKH Univ. Klinikum Graz; Labor
Dr. Breuer Wien; Pathologisch-bakteriologisches Institut Kaiser Franz Josef Wien;
Pathologisch-bakteriologisches Institut Sozialmedizinisches Zentrum Ost Wien;
Pathologisch-bakteriologisches Institut Otto Wagner Spital Wien; KH Göttlicher
Heiland Wien; Institut für klinische Pathologie und Mikrobiologie – Burgenländische
Krankenanstalten GesmbH; Unfallkrankenhaus Lorenz-Böhler Wien; Institut für
Labordiagnostik und Mikrobiologie Klinikum Klagenfurt; Institut für Hygiene und
Mikrobiologie KH St. Pölten; Institut für Pathologie Feldkirch; Institut für Pathologie
LKH Villach; Institut für Pathologie/Mikrobiologie Landeskrankenhaus Vöcklabruck;
Labor Dr. Mustafa/Dr. Richter Salzburg; Pathologie und Mikrobiologie – Kardinal
Schwarzenberg'sches Krankenhaus.

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]. 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]. 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.
- [10]. 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
- [11]. 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
- [12]. 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
- [13]. 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.
- [14]. 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>
- [15]. 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

[16]. 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

[17]. 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

[18]. Bundesministerium für Gesundheit – **Monatliche Statistik meldepflichtiger übertragbarer Infektionskrankheiten 2013 (zuletzt abgefragt 26.01.2014)**

http://bmg.gv.at/home/Schwerpunkte/Krankheiten/Uebertragbare_Krankheiten/Statistiken/Monatliche_Statistik_meldepflichtiger_uebertragbarer_Infektionskrankheiten_2013