

Clostridium difficile – Kommensale und Erreger

Clostridium (*C.*) *difficile*, eine Spezies der Gattung Clostridium (Familie Bacillaceae) ist ein sporenbildendes grampositives Stäbchen, ein aerotoleranter Anaerobier. Natürlicher Standort ist der Darm von Tieren und Menschen, Nachweise im Boden und in Gewässern sind möglich. Der normalerweise – meist in eher geringer Zahl – als Kommensale in der natürlichen Darmflora lebende Keim kann unter bestimmten Umständen (z. B. während oder nach antibiotischer Therapie oder im Falle eines durch invasive Eingriffe, Tumoren oder Immunsuppression vorgeschädigten Organismus) zu einem Infektionserreger werden und durch das Wirken spezifischer Exotoxine (s. S. 310) verschiedene Formen einer Durchfallerkrankung auslösen. Werden durch – insbesondere auch auf Anaerobier wirksame – Breitbandantibiotika wesentliche Teile der natürlichen Darmflora zerstört, kann *Clostridium difficile* aufgrund seiner Resistenzeigenschaften selektioniert werden. So wurde dieses Bakterium zum wichtigsten Erreger der Antibiotika-assoziierten Durchfallerkrankung (AAD) – ein Krankheitsbild, das seit 1960 bekannt ist und seit den 70er Jahren häufiger auftritt.

Klinisch bietet die *C.-difficile*-assoziierte Diarrhö (CDAD) ein Spektrum von einer passageren, selbstlimitierenden Durchfallerkrankung über längere Durchfallepisoden bis hin zur schweren, pseudomembranösen Kolitis (die mit einer Letalität von 1–2% belastet ist). Die Symptomatik kann auch erst 1–2 Wochen nach Absetzen des Antibiotikums einsetzen. Symptome bei schwereren Verlaufsformen sind, neben den Durchfällen (wässrig bis blutig-schleimig), Fieber, krampfartige Bauchschmerzen und schweres Krankheitsgefühl.

Neben diesem endogenen Zustandekommen von Infektionen ist eine **nosokomiale Übertragung** auf Patienten (unabhängig von einer Antibiotikatherapie) sowohl als asymptomatische Besiedlung als auch mit der

Folge einer manifesten Erkrankung möglich. So sind *Clostridium-difficile*-Infektionen auch über diesen Mechanismus zu einer wichtigen Krankenhausinfektion geworden, die zudem gehäuft im Rahmen von Ausbrüchen in Erscheinung treten kann. Verdachtsmomente können sich aus dem Auftreten von Durchfällen mehr als 3 Tage nach Aufnahme ergeben. Die häufige Besiedlung von Patienten im Krankenhaus erhöht das Risiko einer weiteren Ausbreitung. Dabei ist zu berücksichtigen, dass die Sporen von *Clostridium difficile* sehr resistent gegen Umwelteinflüsse und Desinfektionsmittel sind.

In der **Diagnostik** werden zunächst die klinischen Symptome gewertet, die Endoskopie kann Beiträge leisten. In der **Labordiagnostik** besitzt der Nachweis der spezifischen Toxine aus dem Stuhl eine besondere Aussagekraft, da der Nachweis von *C. difficile* allein auch Ausdruck einer Besiedlung sein kann (Einzelheiten s. Beitrag zu *Clostridium-difficile*-Infektionen S. 309 ff).

Zu Beginn einer **Behandlung** muss ein eventuell auslösendes Antibiotikum abgesetzt werden. Abhängig von der Schwere des Verlaufs wird bei leichtem Krankheitsbild symptomatisch behandelt (Flüssigkeitsersatz), bei schweren Formen wird bevorzugt mit Metronidazol therapiert, alternativ mit einem Glykopeptid-Antibiotikum. Rezidive sind nicht selten. Bei erneut notwendiger Antibiotikatherapie zeigten zusätzlich gegebene Probiotika wie z. B. *Saccharomyces boulardii* eine günstige Wirkung.

Prophylaxe: Vorbeugend ist wichtig, Antibiotika nur streng indiziert einzusetzen; geeignete krankenhaushygienische Maßnahmen (Konsequente Händehygiene! Adäquate Reinigung und Desinfektion!) beugen der Ausbreitung im Krankenhaus vor. – Patienten mit *Clostridium-difficile*-bedingten Durchfällen sollten isoliert werden.

Clostridium-difficile-Infektionen: Nosokomiale Ausbrüche durch einen neuen, besonders virulenten Stamm in den USA, Kanada, England, Belgien, Holland und Frankreich

Erhöhte Wachsamkeit und geeignete Maßnahmen der Infektionskontrolle auch in Deutschland erforderlich!

Montreal, Kanada: Ein 50-jähriger Mann ohne Grunderkrankungen wird zum elektiven Hüftgelenkersatz in eine Klinik aufgenommen. Dort prägt sich eine Clostridium-difficile-Infektion aus, an der er vier Tage später verstirbt.¹ Berichte wie dieser über foudroyant verlaufene C.-difficile-Infektionen haben in jüngster Zeit für große Aufmerksamkeit gesorgt; es konnte gezeigt werden, dass sich ein neuer, besonders virulenter Epidemiestamm ausbreitet:

Fatale Verläufe einer *C.-difficile*-assoziierten Diarrhö CDAD) waren bisher selten. Zwar wird *C. difficile* bereits seit mehr als 30 Jahren als häufigster Erreger bei der nosokomial erworbenen (Antibiotika-assoziierten) Diarrhö isoliert,² doch

wie Prävalenzstudien gezeigt haben, verlaufen bis zu 60% der Infektionen symptomlos und die Erkrankung geht, wenn man von der seltenen pseudomembranösen Kolitis absieht, mit einer eher geringen spezifischen Letalität einher.^{3,4}

Diese Situation hat sich in den letzten 5 Jahren in einigen Ländern deutlich verändert. In den USA (2000–2003) und in Kanada (2002–2005) wurden nosokomiale Ausbrüche mit einer 5- bis 20-fachen Zunahme der Inzidenz von CDAD beobachtet, die durch eine etwa 3- bis 5-fach erhöhte Letalität (13,8–22% vs. 4,7%) symptomatischer *C.-difficile*-Infektionen charakterisiert waren.^{5,6} Im Jahr 2003 gelangten solche Epidemiestämme offensichtlich auch nach Europa.

Betroffen sind bisher England (2003)⁷, Belgien (2005)⁸, die Niederlande (2005)⁹ und Frankreich (2006)¹⁰.

Als **Virulenzfaktoren** von *C. difficile* gelten in erster Linie zwei große clostridiale Toxine, die als **Enterotoxin (Toxin A)** und als **Cytotoxin (Toxin B)** imponieren. Diese beiden Toxine werden zusammen mit dem positiven Regulator TcdR, dem negativen Regulator TcdC und TcdE, das als Holin wirkt, auf einem Bereich des Bakterienchromosoms kodiert, der als PaLoc bezeichnet wird.^{11,12} Eine sehr anschauliche Darstellung des Genlocus findet sich in einer Arbeit von McDonald et al.⁵ Die **Toxingene tcdA** und **tcdB**, aber auch andere Anteile des PaLoc wie **tcdC** können von Stamm zu Stamm variieren, so dass sich *C. difficile*-Isolate unter anderem anhand ihrer Toxintypen unterscheiden lassen.¹³ Kürzlich wurde als weiterer möglicher Virulenzfaktor bei etwa 6% der untersuchten Stämme ein **binäres Toxin (CDTA/B)** beschrieben, das eine ADP-Ribosyltransferase mit bisher noch unbekannter Funktion darstellt.

Die bisher in den USA, Kanada, England, Belgien, Holland und Frankreich nachgewiesenen Epidemiestämme weisen spezifische **Merkmale** auf, **anhand derer sie identifiziert werden können**: Sie entsprechen dem **Toxintyp III mit kompletten Toxingenen (tcdA, tcdB)** und besitzen das **Gen für das binäre CDT (ADP-Ribosyltransferase)** als weiteren Virulenzfaktor. Als besonderes Merkmal ist eine 18-bp-Deletion im Regulatorgen *tcdC* vorhanden, die man wegen der möglichen Minderung der Leistung des negativen Regulators *TcdC* mit der 16- bis 23-fach erhöhten in vitro Zytotoxizität assoziiert.¹⁴ Weiterhin sind die Epidemiestämme bisher weit überwiegend dem **PCR-Ribotyp O27** zuzuordnen.

Im Empfindlichkeitstest (E-Test) zeigen die bisher untersuchten Epidemie-Stämme Resistenzen gegen **Erythromycin** und neuere **Chinolone** (immer gegen Gruppe II und Gruppe III, z. T. auch Gruppe IV). Sie sind aber **sensibel** gegen **Metronidazol**, Vancomycin und Clindamycin.⁶

In der Stammsammlung des Konsiliarlabors für gastrointestinale Infektionen an der Abteilung Mikrobiologie und Hygiene des Universitätsklinikums Freiburg, die ca. 900 Isolate mit über 70 Ribotypen aus den Jahren 2000 bis heute umfasst, sind zwar einzelne Isolate enthalten, die dem Ribotyp O27 entsprechen, sowie einige Isolate anderer Ribotypen, die eine Deletion im Regulatorgen *tcdC* aufweisen, der typische Epidemiestamm mit allen o. g. Eigenschaften wurde jedoch bisher nicht identifiziert. Dies gilt auch für die untersuchten Isolate aus Ausbrüchen in Deutschland, die dem Konsiliarlabor zur weiteren Untersuchung zugegangen sind. Auch eine kürzlich in Deutschland von einer europäischen Arbeitsgruppe der ESCMID durchgeführte Multicenterstudie bestätigte dieses Bild.

Im Konsiliarlabor für *C. difficile* in Mainz wurde in jüngerer Vergangenheit ein vermehrtes endemisches Auftreten von *C. difficile*-Infektionen registriert, das z. T. den Charakter von Ausbrüchen annahm, so dass Untersuchungen in den betroffenen Krankenhäusern erfolgten. Zur Beurteilung eines evtl. endemischen Auftretens kommt dabei ein neues Verfahren (CdISt-Typisierung) zur Anwendung, dass mittels der PCR die Identität von Stämmen schlüssig

nachweisen kann.¹⁵ Bei der begleitenden Beratung der ärztlichen Kollegen fiel auf, dass sich lokale Ausbrüche mit der vermehrten Anwendung neuerer Fluorochinolone zu häufen scheinen. Parallelen zur Ausbreitung der eingangs beschriebenen hochvirulenten Fluorochinolon-resistenten Stämme drängen sich auf, so dass der unkritische Gebrauch entsprechender Substanzen unterbleiben sollte.

Mit dem Auftreten der beschriebenen besonders virulenten Stämme ist auch in Deutschland früher oder später zu rechnen. Notwendige Voraussetzungen und erforderliche Maßnahmen zum frühzeitigen Erkennen der Einschleppung solcher virulenter Stämme bzw. zur Eindämmung der weiteren Ausbreitung sind:

A) Routinediagnostik und Spezialdiagnostik:

- ▶ klare **Indikationen für die Durchführung einer *C. difficile*-spezifischen mikrobiologischen Diagnostik** aus Stuhlproben symptomatischer Patienten (ggf. Definition von Risikogruppen),
 - ▶ die **Anwendung geeigneter und zuverlässiger diagnostischer Verfahren**,
 - ▶ die **Verfügbarkeit von Feintypisierungsverfahren** für die notwendigen epidemiologischen Untersuchungen (Toxintypisierung, CDT-Nachweis, Ribotypisierung, Nachweis der Deletion im Regulatorgen, ggf. PFGE und Clusteranalyse; CdISt-Typisierung),
 - ▶ Klärung der Kostenübernahme,
 - ▶ die geeignete Zusammenführung der erhobenen Daten.
- Für die **Routinediagnostik** stehen sowohl diverse Verfahren zum Nachweis der *C. difficile*-Toxine A und B aus Stuhlproben (ELISA) als auch mikrobiologische Verfahren zur Anzucht, Toxintestung und zur Erstellung des Antibiogramms von *C. difficile* zur Verfügung (s. MIQ 9)¹⁶.

Zur **Identifizierung des neuen, oben beschriebenen Epidemiestammes** sind erforderlich:

- ▶ die Toxintypisierung,
- ▶ die PCR-Ribotypisierung,
- ▶ der Nachweis der 18-bp-Deletion im *tcdC*-Gen (PCR und ggf. Sequenzierung),
- ▶ ggf. der Nachweis einer vermehrten Toxinproduktion (Cytotoxizitätstest).

In Einzelfällen kann eine weitergehende Charakterisierung erforderlich sein (Mc Cannell et al.; J. Clin. Microbiol. 2006, in Vorbereitung). – Zum **Nachweis eines endemischen Vorkommens** in einem Krankenhaus liefert zusätzlich die CdISt-Typisierung schlüssige Antworten.

Speziallaboratorien

Besondere Expertise sowohl in der Routinediagnostik als auch hinsichtlich der bei einem Ausbruch erforderlichen Zusatzuntersuchungen haben das **Konsiliarlabor für gastrointestinale Infektionen** (Ltg.: Prof. M. Kist) in Kooperation mit dem **Institut für Klinische Pharmakologie und Experimentelle Toxikologie** (Ltg.: Prof. K. Aktories), beide am **Universitätsklinikum Freiburg** sowie das **Konsiliarlabor für *C. difficile*** an der Universität Mainz (Ltg.: Prof. Dr. Chr. von Eichel-Streiber) und das **Konsiliarlabor für anaerobe Bakterien** an der Universität Leipzig (Ltg.: Prof. Dr. A.C. Rodloff).

B) Empfehlungen zum Vorgehen im Erkrankungsfall oder bei Häufungen

Voraussetzung für effektive und zeitnahe Kontrollmaßnahmen ist die Beobachtung der Inzidenz von Fällen *C. difficile*-assoziierter Diarrhö durch eine ggf. verstärkte klinische Aufmerksamkeit und mikrobiologische Surveillance.

Jede Häufung *C. difficile*-assoziierter Erkrankungen in Krankenhäusern und Altenheimen muss von den Verantwortlichen, insbesondere auch im eigenen Interesse, erfasst, bewertet und bei Verdacht auf einen epidemiologischen Zusammenhang als nosokomialer Ausbruch an das zuständige Gesundheitsamt gemeldet werden. Spätestens nach Feststellung einer Häufung ist zwingend eine ausschließlich auf dem Toxinnachweis basierende mikrobiologische Routinediagnostik durch die **Erregeranzucht** mit Antibiogramm zu ergänzen. Hierbei können die o. g. Laboratorien Hilfestellung leisten. Ohne die Anzucht der Erreger lassen sich Fragen zur Situation in einem Krankenhaus (Endemie? Ausbruch?) nicht beantworten! Sobald Isolate zur Verfügung stehen, können diese im Konsiliarlabor auf die **typischen Eigenschaften des Epidemiestammes** untersucht werden und kann ein eventueller Ausbruch durch PCR-Ribotypisierung bestätigt oder ausgeschlossen werden.

Bezüglich der Maßnahmen zur Eindämmung der Ausbreitung der Erreger wird auf die Empfehlungen des Robert Koch-Institutes verwiesen (s. www.rki.de > Infektionsschutz > Krankenhaushygiene > Informationen zu ausgewählten Erregern > Clostridium difficile).

Für diesen Bericht danken wir Herrn Prof. Dr. M. Kist, Universität Freiburg (E-Mail: manfred.kist@uniklinik-freiburg.de), Herrn Prof. Dr. Chr. von Eichel-Streiber, Universität Mainz (E-Mail: veichel@uni-mainz.de), Herrn Prof. Dr. M. Mielke, Robert Koch-Institut (E-Mail: mielkem@rki.de) und Herrn Prof. Dr. A.C. Rodloff, Universität Leipzig (E-Mail: acr@medizin.uni-leipzig.de), die auch als Ansprechpartner zur Verfügung stehen.

Literatur

1. Eggertson L, Sibbald B: Need for national surveillance for hospital infections. *CMAJ* 2004; 171(1): 22
2. Riley TV: Nosocomial diarrhoea due to *Clostridium difficile*. *Curr Opin Infect Dis* 2004; 17: 323–327
3. McFarland LV, et al.: Nosocomial acquisition of *Clostridium difficile* infection. *N Engl J Med* 1989; 320(4): 204–210
4. Bartlett JG: Clinical practice. Antibiotic-associated diarrhea. *N Engl J Med* 2002; 346(5): 334–339
5. McDonald LC, et al.: An epidemic, toxin gene-variant strain of *Clostridium difficile*. *N Engl J Med* 2005; 353(23): 2433–2441
6. Loo VG, et al.: A predominantly clonal multi-institutional outbreak of *Clostridium difficile*-associated diarrhea with high morbidity and mortality. *N Engl J Med* 2005; 353(23): 2442–2449
7. Smith A: Outbreak of *Clostridium difficile* infection in an English hospital linked to hypertoxin-producing strains in Canada and the US. *Euro Surveill* 2005; 10(6): E050630 2
8. Joseph R, et al.: First isolation of *Clostridium difficile* PCR ribotype 027, toxinotype III in Belgium. *Euro Surveill* 2005; 10(10): E051020 4
9. Kuijper EJ, et al.: *Clostridium difficile* ribotype 027, toxinotype III, the Netherlands. *Emerg Infect Dis* 2006; 12(5): 827–830
10. Tachon M, et al.: First cluster of *C. difficile* toxinotype III, PCR-ribotype 027 associated disease in France: preliminary report. *Euro Surveill* 2006; 11(5): E060504 1
11. Braun V, et al.: Definition of the single integration site of the pathogenicity locus in *Clostridium difficile*. *Gene* 1996; 181(1–2): 29–38
12. Rupnik M, et al.: Revised nomenclature of *Clostridium difficile* toxins and associated genes. *J Med Microbiol* 2005; 54: 113–117
13. Rupnik M, et al.: A novel toxinotyping scheme and correlation of toxinotypes with serogroups of *Clostridium difficile* isolates. *J Clin Microbiol* 1998; 36(8): 2240–2247
14. Warny M, et al.: Toxin production by an emerging strain of *Clostridium difficile* associated with outbreaks of severe disease in North America and Europe. *Lancet* 2005; 366(9491): 1079–1084
15. Hasselmayr O, et al.: The IStron CdISt1 of *Clostridium difficile*: molecular symbiosis of a group I intron and an insertion element. *Anaerobe* 2004; 10(2): 85–92
16. MIQ – Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik (erarbeitet i. A. der DGHM), Gustav-Fischer-Verlag