

Diplomarbeit

**Epidemiologie von *Clostridium difficile* an der
Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz**

eingereicht von

Elisabeth Krones

Mat.Nr.: 0310478

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktorin der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Klinischen Abteilung für Gastroenterologie und Hepatologie

Universitätsklinik für Innere Medizin

unter der Anleitung von

ao. Univ. Prof. Dr. Christoph Högenauer

ao. Univ. Prof. Dr. Robert Krause

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwende habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 29.05.2009

Danksagungen

An dieser Stelle möchte ich mich bei all jenen bedanken, die mich beim Erstellen dieser Diplomarbeit unterstützt haben.

Insbesondere möchte ich mich bei Univ. Prof. Dr. Christoph Högenauer für die ausgezeichnete Betreuung bei dieser Arbeit bedanken. Weiters danke ich Univ. Prof. Dr. Robert Krause, Christina Strempl und Bernadette Neuhold für die freundliche Unterstützung bei der Bearbeitung der Proben im mikrobiologischen Labor der Universitätsklinik für Innere Medizin, sowie Ass. Dr. Thomas Valentin für die lichtmikroskopischen Bilder.

Außerdem bedanke ich mich noch bei allen Stationsschwestern sowie dem Pflegepersonal der untersuchten Stationen der Universitätsklinik für Innere Medizin, die wesentlich zur Gewinnung der Stuhlproben sowie deren Versand ins Labor und somit zum Gelingen dieser Datenerhebung beigetragen haben.

Insbesondere danke ich meinen Eltern, die mir das Medizinstudium ermöglicht und mich während der gesamten Studienzeit unterstützt haben.

Zusammenfassung

Hintergrund

Clostridium difficile zählt zu den häufigsten nosokomialen Erregern und führt vor allem im Rahmen einer antibiotischen Therapie zu gastrointestinalen Erkrankungen, die von milder selbstlimitierender Diarrhoe bis hin zur schweren pseudomembranösen Kolitis reichen können. Zahlreiche Studien belegen, dass die Inzidenz von *C. difficile* assoziierten Erkrankungen in den letzten Jahren deutlich zugenommen hat. Zudem kam es in den letzten Jahren in den USA, in Kanada, in Japan und in einigen europäischen Ländern zum Auftreten eines neuen hochvirulenten Stammes, der zu schweren Krankheitsverläufen und gehäuft tödlichen Ausgängen geführt hat. Man geht davon aus, dass etwa 3% aller gesunden Erwachsenen *C. difficile* unbemerkt im Darm tragen. Bei hospitalisierten asymptomatischen Patienten sind Kolonisationsraten von 15% bis 30% beschrieben. Um die Frage zu beantworten, ob die Rate an *C. difficile* assoziierten Erkrankungen (CDAD) auch an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz zugenommen hat, wurde im Rahmen dieser Diplomarbeit die Zahl der positiv auf *C. difficile* getesteten Stuhlproben in den Jahren 2000 bis 2008, sowie die Anzahl der im MEDOCS kodierten ICD-10 Diagnosen, die eine *C. difficile* assoziierte Erkrankung beschreiben, erhoben. Weiters stellte sich die Frage, wie hoch die Kolonisationsrate bei hospitalisierten Patienten der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz im Vergleich zu den Daten aus anderen Studien ist. Zu diesem Zwecke wurden 214 asymptomatische Patienten der Universitätsklinik für Innere Medizin mittels Toxintest und Stuhlkultur auf das Vorhandensein von *C. difficile* untersucht.

Material und Methoden

Zur Bestimmung der Inzidenz von *C. difficile* assoziierten Erkrankungen an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz wurden Daten von 4 mikrobiologischen Labors erhoben, an die in den Jahren 2000 bis 2008 Stuhlproben zur Testung auf *C. difficile* verschickt wurden. Zusätzlich wurden die von 2004 bis 2008 im MEDOCS kodierten ICD-10 Diagnosen „A04.7“ und „B96.8“, die eine Clostridieninfektion beschreiben, aus den Entlassungsdiagnosen der Universitätsklinik für Innere Medizin eruiert. Um die Rate an asymptomatischen Trägern von *C. difficile* an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz zu erfassen, wurden von Oktober bis Dezember 2008 Stuhlproben von 214 stationären Patienten an sieben verschiedenen

Stationen gewonnen. Die Stuhlproben wurden mittels Toxinschnelltest und Stuhlkultur auf *C. difficile* untersucht.

Resultate

In den Jahren 2000 bis 2008 wurden insgesamt 10.311 Stuhlproben von der Universitätsklinik für Innere Medizin zur Testung auf *C. difficile* verschickt. Bei 643 (6%) Stuhlproben konnte *C. difficile* entweder mittels Toxintest oder Stuhlkultur nachgewiesen werden. Sowohl die Anzahl der insgesamt getesteten als auch der positiv getesteten Proben stieg in den Jahren 2000 bis 2008 auf das Dreifache an, während der prozentuelle Anteil der positiv getesteten Proben über die Jahre hinweg weitgehend konstant blieb. Bei etwa der Hälfte der positiv auf *C. difficile* getesteten Patienten in den Jahren 2004 bis 2008 wurde im Krankenhausdokumentationssystem MEDOCS eine entsprechende ICD-10 Diagnose kodiert. Von den 214 untersuchten asymptomatischen Patienten der Universitätsklinik für Innere Medizin konnte bei 7 Patienten (3%) *C. difficile* entweder mittels Toxinschnelltest und/oder Stuhlkultur nachgewiesen werden. Das Durchschnittsalter des untersuchten Patientenkollektivs betrug 68 ± 15 Jahre. Bei etwa der Hälfte der Patienten fand sich zum Zeitpunkt der Untersuchung die Einnahme von Antibiotika und/oder Protonenpumpeninhibitoren. Die Aufenthaltsdauer bei den positiv getesteten asymptomatischen Patienten betrug im Mittel 13 ± 7 Tage.

Interpretation

Während im Laufe der letzten Jahre zwar immer mehr Proben zur Testung auf *C. difficile* von der Universitätsklinik für Innere Medizin versandt wurden, blieb der prozentuelle Anteil der positiv getesteten Proben über die Jahre hinweg weitgehend konstant. Die Ergebnisse sprechen daher gegen ein vermehrtes Auftreten von *C. difficile* assoziierten Erkrankungen an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz, jedoch für ein gesteigertes Bewusstsein, diese Infektion zu diagnostizieren. Bei nur etwa der Hälfte der Patienten, die positiv auf *C. difficile* getestet wurden, fanden sich entsprechende ICD-10 Diagnosen in den Entlassungsdaten. Das bedeutet, dass das alleinige Heranziehen von Krankenhausentlassungsdaten nicht ausreicht, um entsprechende epidemiologische Veränderungen erfassen zu können. Die Rate an asymptomatischen Trägern von *C. difficile* an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz ist mit 3% deutlich niedriger als in vergleichbaren Studien, in denen zum Teil Kolonisationsraten von 15 bis 30% bei hospitalisierten Patienten nachgewiesen werden konnten. Der Großteil dieser

Vergleichsarbeiten stammt aus dem angloamerikanischen Raum und lässt auf starke regionale Unterschiede in der Epidemiologie von *C. difficile* Infektionen schließen.

Abstract

Background

Clostridium difficile is one of the most common nosocomial pathogens causing gastrointestinal diseases. Manifestations of infection range from self-limiting diarrhea to severe afflictions such as pseudomembranous colitis. The major risk factor for this infection is the use of antibiotics. A large number of studies have found that the incidence of *C. difficile* associated diseases (CDAD) has risen remarkably in recent years. In the United States, Canada, Japan and some European countries, a new hypervirulent strain that causes severe disease with increased mortality has been identified. About 3% of the healthy adults are colonized asymptotically with *C. difficile*. The rate of asymptomatic carriage of *C. difficile* among inpatients is remarkably higher, with colonization rates up to 30%. The aim of this study was to determine whether the incidence of CDAD has also increased in recent years at the Department of Internal Medicine in Graz. Additionally, the rate of asymptomatic carriers of *C. difficile* among patients of the Department of Internal Medicine in Graz was evaluated.

Material and Methods

To assess the incidence of *C. difficile* associated diseases, data were collected from four microbiological laboratories that had tested stool samples from the Department of Internal Medicine in Graz between 2000 and 2008. The numbers of total samples and samples positive for *C. difficile* were determined. Additionally, the ICD-10 diagnoses “A04.7” and “B96.8” between 2004 and 2008, which describe infections with *C. difficile*, were retrieved from the hospital records database. To determine the rate of asymptomatic carriers of *C. difficile* at the Department of Internal Medicine in Graz, stool samples from 214 inpatients without diarrhea were tested for *C. difficile* toxins A and B or cultured for *C. difficile*.

Results

From 2000 to 2008, a total of 10 311 stool samples were tested for *C. difficile*. Six hundred and forty-three 643 (6%) of the stool samples were positive for *C. difficile*, either by toxin test or stool culture. The number of all stool samples tested for *C. difficile* as well as the samples testing positive for *C. difficile* increased three-fold between 2000 and 2008. The proportion of stool samples positive for *C. difficile* has not, however, changed substantially in this period. Between 2004 and 2008, only half of the positive cases were documented in the database with the respective ICD-10 diagnosis. Asymptomatic carriage of *C. difficile*

was detected in 7 out of 214 inpatients (3%) at the Department of Internal Medicine in Graz, either by toxin test or stool culture for *C. difficile*. The median age of patients testing positive was 67 ± 12 . Approximately half of those patients were taking antibiotics and/or proton-pump inhibitors at the time of testing. Their average length of stay on the medical ward was 13 ± 7 days.

Interpretation

While the number of stool samples tested for *C. difficile* increased, the percentage rate of positive samples remained nearly constant, indicating that the rate of CDAD had not increased at the Department of Internal Medicine in Graz in the observation period. As only half of the patients who tested positive for *C. difficile* had a corresponding diagnosis in their histories, data from this source underrepresent the number of *C. difficile* cases. The rate of asymptomatic carriers of *C. difficile* among inpatients at the Department of Internal Medicine in Graz was very low (3%) in comparison to previous studies, which report colonization rates around 15 to 30%. As most of those studies were from the United States, considerable regional differences may be suspected.

Inhaltsverzeichnis

Danksagungen	ii
Zusammenfassung	iii
Abstract.....	vi
Inhaltsverzeichnis	viii
Glossar und Abkürzungen	x
Abbildungsverzeichnis	xi
Tabellenverzeichnis	xiii
1 Einleitung	1
1.1 Historisches	2
1.2 Mikrobiologie	2
1.2.1 Toxine.....	6
1.3 Übertragung und Pathogenese	7
1.4 Risikofaktoren für eine <i>C. difficile</i> Infektion.....	9
1.5 CDAD – <i>C. difficile</i> associated diseases	11
1.5.1 AAD – Antibiotika assoziierte Diarrhoe	12
1.5.2 PMC - Pseudomembranöse Colitis.....	14
1.6 Diagnostik.....	19
1.7 Therapie	22
1.7.1 Allgemeine Maßnahmen	23
1.7.2 Medikamentöse Therapie	24
1.7.3 Chirurgische Therapie	25
1.7.4 Therapie bei rezidivierenden <i>C. difficile</i> Infektionen.....	25
1.7.5 Prophylaktische Maßnahmen	26
1.8 Epidemiologie.....	27
1.8.1 Nosokomiale CDAD	28
1.8.2 Community-aquired CDAD	28
1.8.3 Asymptomatische Träger von <i>Clostridium difficile</i>	29
1.9 Ribotyp O27 Epidemie	31
2 Material und Methoden	34
2.1 Epidemiologie an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz.....	34
2.2 Asymptomatische Träger bei Patienten an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz.....	35
2.2.1 Patientenpopulation	35
2.2.2 Mikrobiologische Untersuchungen	36
2.2.3 Toxinschnelltest.....	37
2.2.4 Stuhlkultur	39
2.2.5 Datenauswertung	41
2.2.6 Verwendete Produkte	42
3 Ergebnisse – Resultate.....	43
3.1 Epidemiologie von <i>C. difficile</i> Infektionen an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz.....	43
3.2 Asymptomatische Träger bei Patienten an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz.....	51
4 Diskussion	61
4.1 Epidemiologie von <i>C. difficile</i> Infektionen an der Universitätsklinik für Innere Medizin Graz	61
4.2 Asymptomatische Träger bei Patienten der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz	68

5	Literaturverzeichnis	79
	Lebenslauf	83

Glossar und Abkürzungen

AAC	Antibiotika Assoziierte Colitis
AAD	Antibiotika Assoziierte Diarrhoe
ATP	Adenosintriphosphat
CDAD	Clostridium Difficile Associated Disease
COPD	Chronic Obstruvtive Pulmonary Disease
CT	Computertomographie
DM	Diabetes mellitus
(d)	Tage
GTP	Guanosintriphosphat
HCl	Hydrogenchlorid (Salzsäure)
ICD-10	International Classification of Diseases
KHK	Koronare Herzkrankheit
MEDOCs	Dokumentations- und Datenerfassungssystem der steirischen Krankenanstaltengesellschaft (KAGES)
MRSA	Methicillin resistenter Staphylokokkus aureus
NAP	Nordamerikanische Pulsfeldgelelektrophorese
NINS	Niereninsuffizienz
PCR	Polymerase Kettenreaktion
PFGE	Pulsfeldgelelektrophorese
PMC	Pseudomembranöse Colitis
PPI	Protonenpumpeninhibitor
REA	Restriktionsgelelektrophorese
RKI	Robert Koch Institut
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome
SPSS	Statistik- und Analysesoftware
St.p.	Status post
UKIM	Universitätsklinik für Innere Medizin

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: <i>C. difficile</i> Kolonien auf einer Blutagarplatte. Es zeigen sich zahlreiche durchsichtig weißliche Kolonien mit einem Durchmesser von etwa 3mm.	4
Abbildung 2: Lichtmikroskopische Aufnahme eines Stuhlausstrichs mit <i>C. difficile</i> . Die Clostridien imponieren als lange, dünne grampositive Stäbchen inmitten von gramnegativen Kokken. Mit besonderem Dank an Ass. Dr. Thomas Valentin (Universitätsklinik für Innere Medizin Graz).....	5
Abbildung 3: Elektronenmikroskopische Aufnahme von <i>C. difficile</i> (CDC/Lois S. Wiggs; http://phil.cdc.gov/phil/home.asp).....	5
Abbildung 4: Endoskopische Darstellung einer pseudomembranösen Colitis. Es zeigt sich eine deutliche Entzündung der Mucosa, sowie die aufgelagerten gelblichen zum Teil plaqueförmigen und konfluierenden Pseudomembranen.	16
Abbildung 5: Endoskopische Darstellung einer pseudomembranösen Colitis. Mit besonderem Dank an Univ.-Prof. Dr. Christoph Högenauer (Abteilung für Gastroenterologie und Hepatologie, Universitätsklinik für Innere Medizin Graz).....	16
Abbildung 6: Histologisches Bild einer pseudomembranösen Colitis. Mit besonderem Dank an Univ. Doz. Dr. Cord Langner (Institut für Pathologie der Medizinischen Universität Graz)	17
Abbildung 7: Abdomen leer Röntgen eines toxischen Megacolon bei CDAD.....	18
Abbildung 8: CT Aufnahme einer pseudomembranösen Colitis	18
Abbildung 9: Die an die Patienten ausgeteilten Stuhlgefäße und die ausgefüllten Mikrobiologieformulare	36
Abbildung 10: Stuhlgefäß.....	36
Abbildung 11: Ablauf des Toxinschnelltests. Das erste Bild zeigt die noch unbefüllten Probefelder, das zweite zeigt die bereits in den Testfeldern befindlichen Stuhlsuspensionen und das dritte Bild zeigt einen Farbumschlag im Kontrollfeld, nicht aber im Testfeld, was einem negativen Testergebnis entspricht. Bei einem positiven Ergebnis kam es zu einem Farbumschlag in beiden Feldern.....	39
Abbildung 12: Prozentueller Anteil der positiv getesteten Proben (6%) im Verhältnis zu den insgesamt eingesandten Proben (n=10.311) von Patienten der Universitätsklinik für Innere Medizin in den Jahren 2000 bis 2008	43
Abbildung 13: Prozentuelle Verteilung der an den jeweiligen Institutionen getesteten Proben.....	44
Abbildung 14: Anzahl der positiv auf <i>C. difficile</i> getesteten Proben pro Jahr. Durchschnittlich wurden 1145 ± 437 Proben pro Jahr zur Testung auf <i>C. difficile</i> verschickt. Die Zahl der insgesamt auf <i>C. difficile</i> getesteten Proben stieg von 2000 bis 2008 auf das Dreifache an.	46
Abbildung 15: Prozentueller Anteil der positiv auf <i>C. difficile</i> getesteten Stuhlproben an den insgesamt auf <i>C. difficile</i> getesteten Proben pro Jahr. Im Durchschnitt wurden pro Jahr 6% der insgesamt eingesandten Proben positiv auf <i>C. difficile</i> getestet.....	46
Abbildung 16: Anzahl der insgesamt eingesandten und Anteil der positiv getesteten Proben pro Jahr. Es zeigt sich, dass der relative Anteil der positiv getesteten Proben über die Jahre weitgehend konstant ist.....	47
Abbildung 17: Anzahl der in den Jahren 2003 bis 2008 an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz stationären Patienten	48
Abbildung 18: Anzahl der Fälle mit der ICD-10 Diagnose „B96.8 Sonstige näher bezeichnete Bakterien als Ursache von Krankheiten, die in anderen Kapiteln klassifiziert sind bzw. <i>C. difficile</i> als Erreger“ in den Jahren 2004 bis 2008 an der Universitätsklinik für Innere Medizin	49

Abbildung 19: Anzahl der Fälle mit der ICD-10 Diagnose „A04.7 Enterokolitis durch <i>C. difficile</i> “ in den Jahren 2004 bis 2008 an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz	49
Abbildung 20: Anzahl der positiv auf <i>C. difficile</i> getesteten Stuhlproben sowie Anzahl der im MEDOCS erfassten ICD-10 Diagnosen „B96.8“ und/oder „A04.7“ in den Jahren 2004 bis 2008 an der Universitätsklinik für Innere Medizin im Vergleich.....	51
Abbildung 21: Geschlechtsverteilung im Studienkollektiv (n=214), welches sich aus 111 Männern und 103 Frauen zusammensetzte.	52
Abbildung 22: Durchschnittsalter der Frauen und der Männer im untersuchten Patientenkollektiv	52
Abbildung 23: Anzahl der pro Station untersuchten Patienten	54
Abbildung 24: Anzahl der Patienten des gesamten Studienkollektivs (n=214), bei denen sich als Grunderkrankung entweder ein Diabetes mellitus (DM) oder eine Niereninsuffizienz (NINS) oder beides unter den Diagnosen fand.....	54
Abbildung 25: Prozentueller Anteil der Patienten des Studienkollektivs (n=214), die entweder Antibiotika (AB) und/oder Protonenpumpeninhibitoren (PPI) erhalten haben	55
Abbildung 26: Anteil des positiv getesteten Patienten (n=7) am gesamten Studienkollektiv (n=214). Ein Patient wurde als „positiv getestet“ bezeichnet wenn entweder der Toxinschnelltest oder die Kultur für <i>C. difficile</i> oder beides positiv waren.....	57
Abbildung 27: Anzahl der Patienten pro Station die „positiv“ getestet wurden (Angaben in Prozent). Der Grund für die geringe Anzahl von Fällen auf der Angiologie, der Pulmonologie und der Endokrinologie ist der im Vergleich zu den anderen untersuchten Stationen niedrige Anteil der untersuchten Proben.....	58
Abbildung 28: Graphische Darstellung der CDAD Fälle und deren Letalität in Österreich. Diese Daten wurden von der AGES, der österreichischen Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH, anhand der Krankenhausentlassungsdaten in den Jahren 2001 bis 2007 erhoben. Es zeigt sich ein deutlicher Anstieg der CDAD Fälle innerhalb der Jahre 2001 bis 2007. Die in violett gehaltenen Zahlen beschreiben die Anzahl der CDAD Fälle pro Jahr. Anhand dieser Graphik lässt sich die Aussage treffen, dass sich die Anzahl der CDAD Fälle über die Jahre mehr als verdreifacht hat (x 3,4). Die in rot gehaltenen Zahlen zeigen die Anzahl der Todesfälle an CDAD pro Jahr, welche sich im Laufe der Jahre nahezu vervierfacht (x 3,7) hat.	62
Abbildung 29: Anzahl der im MEDOCS kodierten ICD-10 Diagnosen, die eine CDAD beschreiben, der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz im Vergleich zu den anhand der Krankenhausentlassungsdaten erhobenen Anzahl der CDAD Fälle in Österreich (Datenquelle: AGES) in den Jahren 2004 bis 2007. Der Anteil der an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz dokumentierten CDAD Fälle an den insgesamt in Österreich dokumentierten CDAD Fällen beträgt im Mittel etwa 2%...	63

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Antimikrobielle Substanzen die in der Lage sind, häufig, weniger häufig oder selten bis nie <i>C. difficile</i> assoziierte Erkrankungen nach sich zu ziehen. (Adaptiert nach Kelly CP 1993)	10
Tabelle 2: Auflistung der durch <i>C. difficile</i> ausgelösten Erkrankungen.....	12
Tabelle 3: Unterschiede zwischen <i>C. difficile</i> assoziierter Diarrhoe und AAD anderer Genese (Adaptiert nach Bartlett 2002; Högenauer 2005).	20
Tabelle 4: Parameter, die auf eine schwere CDAD hinweisen.....	23
Tabelle 5: Anzahl der insgesamt eingesandten Proben und der positiv getesteten Proben an den jeweiligen untersuchenden Institutionen (Prozentueller Anteil der positiv getesteten Proben anhand der insgesamt eingesandten Proben an die jeweiligen Institutionen).....	44
Tabelle 6: Anzahl der insgesamt eingesandten und der positiv getesteten Proben pro Jahr, Gesamtzahl der über die Jahre eingesandten Proben, durchschnittliche Anzahl der pro Jahr eingesandten Proben sowie prozentueller Anteil der positiv getesteten an den insgesamt eingesandten Proben. In der letzten Zeile finden sich in Klammer jeweils die Mindestanzahl und die maximale Anzahl der insgesamt getesteten sowie der positiv getesteten Proben.	45
Tabelle 7: In den Jahren 2004 – 2008 insgesamt an der Universitätsklinik für Innere Medizin stationäre Patienten und Anzahl der positiv auf <i>C. difficile</i> getesteten Patienten (Anteil an den insgesamt stationären Patienten dieses Jahres in %) sowie Anzahl der im MEDOCS erfassten Diagnosen „A04.7“ oder „B96.8“ zur Klassifizierung von Clostridien Infektionen (Anteil an den insgesamt stationären Patienten dieses Jahres in %).....	48
Tabelle 8: Anzahl der insgesamt positiv auf <i>C. difficile</i> getesteten Patienten im Vergleich zu den im MEDOCS erfassten ICD-10 Diagnosen „A04.7“ und/oder „B96.8“ in den Jahren 2004 bis 2008 an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz (Prozentueller Anteil der im MEDOCS erfassten ICD-10 Diagnosen an den insgesamt positiv getesteten Fällen).....	50
Tabelle 9: Demographische Daten der untersuchten Patienten (n=214).....	53
Tabelle 10: Demographische Daten der positiv getesteten Patienten (n=7).....	56
Tabelle 11: Demographische Daten der asymptomatischen Träger von <i>C. difficile</i> (n=7). ..	58
Tabelle 12: Medikamenteneinnahme der positiv getesteten Patienten (n=7).....	58
Tabelle 13: Dauer des stationären Aufenthalts der asymptomatischen Träger von <i>C. difficile</i> (n=7), sowie Tag des stationären Aufenthalts an dem die Stuhlprobe gewonnen wurde.....	59
Tabelle 14: Ergebnisse der Toxintests, der <i>C. difficile</i> Kultur und der Toxintests der <i>C. difficile</i> Isolate aus den Kulturen der asymptomatischen Träger (n=7) an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz	60
Tabelle 15: Anzahl der zur Testung auf <i>C. difficile</i> eingesandten Proben in den Jahren 2000 und 2008 im Vergleich	61
Tabelle 16: Vergleich der in Österreich nachgewiesenen CDAD Fälle (Datenquelle: AGES, Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH) mit den in den Entlassungsunterlagen der Patienten kodierten ICD-10 Diagnosen an der UKIM in Graz in den Jahren 2004 bis 2007 (In Klammer ist der prozentuelle Anteil der im MEDOCS erfassten ICD-10 Diagnosen der Patienten der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz an den insgesamt nachgewiesenen CDAD Fällen in Österreich dargestellt.)	63

Tabelle 17: Anzahl der insgesamt an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz stationäre Patienten und der im MEDOCS kodierten ICD-10 Diagnosen, die eine CDAD beschreiben, in den Jahren 2004 bis 2008 sowie Anzahl der CDAD Fälle pro 1000 stationären Patienten pro Jahr. Durchschnittlich konnte in den Jahren 2004 bis 2008 bei 3 von 1000 stationären Patienten an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz eine <i>C. difficile</i> assoziierte Erkrankung diagnostiziert werden.	65
Tabelle 18: Anzahl der insgesamt an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz stationäre Patienten und Anzahl der positiv auf <i>C. difficile</i> getesteten Proben in den Jahren 2004 bis 2008, sowie Anzahl der positiven Proben pro 1000 Patienten.	65
Tabelle 19: Studien, die sich mit der Kolonisationsrate von <i>C. difficile</i> in der „gesunden“ Bevölkerung beschäftigen.	74
Tabelle 20: Studien, die sich mit der Kolonisationsrate bei hospitalisierten Patienten beschäftigen. In der Arbeit von Riggs, Sethi et al. wurden Patienten einer Langzeitpflegeeinrichtung untersucht. Die hohe Kolonisationsrate (51%) in dieser Studie erklärt sich in erster Linie durch Vorhandensein multipler Risikofaktoren (hohes Alter, schwere Grunderkrankung, häufige Antibiotikaeinnahme) bei Patienten in der Langzeitpflege.	75

1 Einleitung

Clostridium difficile zählt zu den häufigsten nosokomialen Erregern und führt vor allem im Rahmen einer antibiotischen Therapie zu gastrointestinalen Erkrankungen, die von milder selbstlimitierender Diarrhoe bis hin zur pseudomembranösen Colitis reichen können. Zahlreiche Studien belegen, dass die Inzidenz von *C. difficile* assoziierten Erkrankungen (CDAD) in den letzten Jahren deutlich zugenommen hat. Zudem kam es in den letzten Jahren in den USA, in Kanada, in Japan und in einigen europäischen Ländern zum Auftreten eines neuen hochvirulenten *C. difficile* Stammes, der zu schweren Krankheitsverläufen und gehäuft tödlichen Ausgängen geführt hat. In erster Linie sind Patienten in medizinischen Einrichtungen von Infektionen mit *C. difficile* betroffen. Als maßgeblicher Risikofaktor gilt die Einnahme von antimikrobiellen Substanzen. Man geht davon aus, dass etwa 3% aller gesunden Erwachsenen *C. difficile* unbemerkt im Darm tragen. (Djuretic, Wall et al. 1999; Samore 1999; Bartlett 2002) Die Kolonisationsrate bei hospitalisierten Patienten liegt wesentlich höher. In einigen Studien sind Kolonisationsraten von 15% bis 21% bei Patienten in medizinischen Einrichtungen beschrieben. (McFarland, Mulligan et al. 1989; McFarland 1995) Die Rolle der asymptomatischen Träger bei der Übertragung von *C. difficile* in Gesundheitseinrichtungen ist bisweilen nicht ausreichend geklärt.

Es stellt sich die Frage ob die Inzidenz von *C. difficile* assoziierten Erkrankungen in den letzten Jahren auch an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz zugenommen hat. In dieser Arbeit wurde die Rate an *C. difficile* Infektionen in den vergangenen Jahren an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz untersucht. Zu diesem Zwecke wurden Daten an vier verschiedene mikrobiologische Labors, die mit der Untersuchung von Stuhlproben von Patienten der Universitätsklinik für Innere Medizin beauftragt worden sind, erhoben.

Zudem wurde im Rahmen dieser Arbeit untersucht, wie hoch die Rate an asymptomatisch mit *C. difficile* kolonisierten Patienten an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz ist und ob diese mit Daten von anderen Institutionen vergleichbar ist. Zu diesem Zwecke wurden 214 asymptomatische Patienten, die in der Zeit von Oktober bis Dezember 2008 für mindestens 7 Tage an einer Abteilung der Universitätsklinik für Innere Medizin stationär waren, auf das Vorliegen einer Kolonisation mit *C. difficile* untersucht.

1.1 Historisches

Die Entdeckung und Erstbeschreibung von *C. difficile* sowie dessen Namensgebung erfolgte im Jahre 1935 durch Hall und O'Toole. Sie stießen bei der Untersuchung der Darmflora gesunder Neugeborener erstmals auf einen Keim, der bei etwa 50 % der Neugeborenen nicht aber bei Erwachsenen zu finden war. Da ein großer Teil der untersuchten Säuglinge zwar mit diesem neu entdeckten Mikroorganismus kolonisiert war, jedoch keinerlei Krankheitssymptome zeigte, hielten sie ihn primär für harmlos. Hall und O'Toole nannten ihre Entdeckung „*Bacillus difficilis*“, da es zur damaligen Zeit sehr „schwierig“ war, diesen Keim im Labor unter anaeroben Bedingungen zu kultivieren. Im Jahre 1974 wurde *C. difficile* durch Tedesco et al. mit Durchfallserkrankungen, vor allem nach Einnahme des Antibiotikums Clindamycin, in Verbindung gebracht (Tedesco, Barton et al. 1974) und in der Folge schließlich als Auslöser der Antibiotika assoziierten „pseudomembranösen Colitis“ identifiziert. In den darauffolgenden Jahren wurden die beiden durch das Bakterium produzierten Toxine, Toxin A und B, als die eigentlichen Krankheitsauslöser erkannt. Weitere klinische Studien folgten und zeigten, dass eine ganze Reihe verschiedener Antibiotika die Entstehung von *C. difficile* assoziierten Erkrankungen bedingen kann. Mittlerweile zählt *C. difficile* zu den häufigsten nosokomialen Erregern.

1.2 Mikrobiologie

C. difficile gehört wie auch *Clostridium perfringens*, *Clostridium tetani* und *Clostridium botulinum* zur Gattung der Clostridien und ist ein gram-positives oder gram-variables, obligat anaerobes oder auch aerotolerantes, sporenbildendes, ubiquitär vorkommendes Stäbchen. Es ist mobil und bewegt sich durch Flagellaten und Fimbrien fort. (Hurley and Nguyen 2002) *C. difficile* verkapselt sich zu Sporen, um lange Zeit in der Umwelt überleben zu können. Man findet diese Sporen im Boden, im Schmutz, im Staub, im Gastrointestinaltrakt von Haus- und Nutztieren sowie auch in der Luft. Diese Sporen sind äußerst resistent, unter anderem auch gegen starke Säuren, wie etwa der HCl der Magensäure. Zudem sind sie durch herkömmliche alkoholhaltige Flächendesinfektionsmittel nicht abzutöten, sondern nur durch hypochlorithaltige Desinfektionsmittel. Unter anaeroben Bedingungen entkapseln sich die Sporen, die vegetative Form des Keims entwickelt sich und produziert die krankmachenden Toxine. Es gibt toxinproduzierende und nicht toxinproduzierende Clostridienstämme. Beide sind in

der Lage Sporen zu bilden, jedoch nur die toxinproduzierenden Stämme führen zu symptomatischen Infektionen. Die spezifischen Krankheitssymptome bei einer Infektion mit *C. difficile* werden also nicht durch den Keim selbst, sondern durch die von ihm produzierten Toxine hervorgerufen.

Um *C. difficile* nachweisen zu können, eignen sich am besten frisch gewonnene Proben von flüssigem oder ungeformtem Stuhl. Der Nachweis erfolgt entweder mittels Toxintest oder Kulturen für *C. difficile*. Um ein sicheres Ergebnis zu erzielen, sollte die frisch gewonnenen Stuhlproben möglichst schnell, idealerweise innerhalb von 2 Stunden, untersucht werden. Wenn diese Zeitspanne nicht eingehalten werden kann, sollten die Proben gekühlt bei 4°C aufbewahrt werden. Während die Sporen zwar lange Zeit überleben, ist die Zahl der vegetativen Formen in den Stuhlproben nach einigen Tagen Aufbewahrung wesentlich geringer. Die Stuhlproben sollten jedoch längstens nach einer Aufbewahrungszeit von 2 Tagen untersucht werden, um ein optimales Untersuchungsergebnis zu erzielen. Der Toxinnachweis ist auch nach 3 Tagen noch möglich. Wenn die Proben länger aufbewahrt werden sollen, ist eine Lagerung bei minus 70°C sinnvoll, um eine Denaturierung der Toxine zu verhindern, da es bei inadäquater Lagerung zum Verlust der Toxinaktivität und somit zu falsch negativen Testergebnissen kommen kann.

Die Isolation von *C. difficile* aus Stuhlkulturen gestaltet sich durch die Überwucherung mit anderen Keimen als schwierig. Um *C. difficile* im Labor anzüchten zu können, sind spezielle Medien, welche Cefoxitin, Cycloserine und Fructose enthalten, notwendig. Um den Keim anzüchten zu können, müssen die Proben bei 35°C bis 37°C im Brutschrank bis zu 48 Stunden anaerob inkubiert werden. Ein sichtbares Ergebnis ist frühestens nach 18 bis 24 Stunden zu erwarten. Die Kolonien die auf den Kulturmedien anwachsen imponieren makroskopisch gelblich weiß bis durchsichtig, sind flach erhaben mit glatten oder leicht gezackten Rändern und haben einen charakteristischen p-Kresol-artigen Geruch.

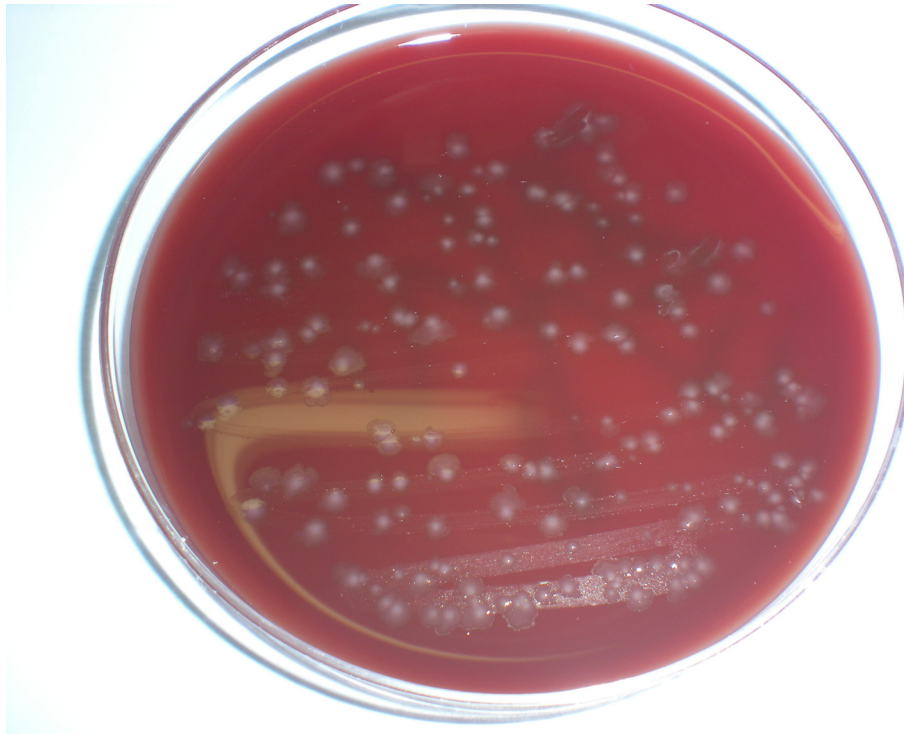


Abbildung 1: *C. difficile* Kolonien auf einer Blutagarplatte. Es zeigen sich zahlreiche durchsichtig weißliche Kolonien mit einem Durchmesser von etwa 3mm.

Die Anzucht von *C. difficile* ist auch auf Blutagarplatten möglich, wenn die Stuhlproben zuvor mit hochprozentigem Alkohol oder mit Hitze behandelt wurden, um andere im Stuhl vorhandene Keime abzutöten. Nach 18- bis 24-stündiger Inkubation im Brutschrank zeigen sich nichthämolytische gelblich bis gräulich weiße unregelmäßige Kolonien mit einem Durchmesser von 2 bis 4mm. (siehe Abbildung 1)

Unter dem Mikroskop imponieren Clostridien als grampositive oder gramvariable dünne Stäbchen, die etwa 3 bis 5 μm lang und 0,5 μm breit sind. An den Enden der Stäbchen oder dazwischen können eventuell Sporen zu sehen sein. (siehe Abbildung 2)

Die Identifikation von *C. difficile* erfolgt anhand der typischen Kolonien die auf den Agarplatten anwachsen, der Morphologie unter dem Mikroskop und dem charakteristisch stechenden Geruch nach p-Kresol. (Patrick R. Murray 2007)

Eine weitere Nachweismöglichkeit ist die biochemische Identifikation von *C. difficile*. Dem Keim werden verschiedene Metaboliten angeboten, deren Verstoffwechslung in speziellen Testkits zu Farbumschlägen führt.

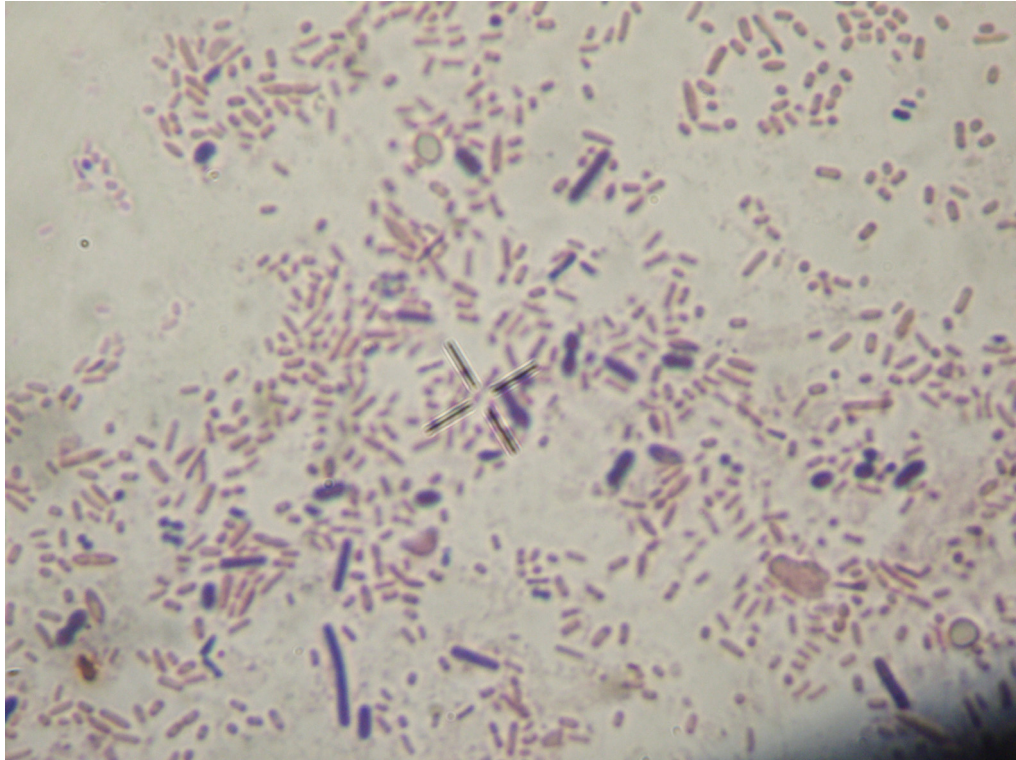


Abbildung 2: Lichtmikroskopische Aufnahme eines Stuhlausstrichs mit *C. difficile*. Die Clostridien imponieren als lange, dünne grampositive Stäbchen inmitten von gramnegativen Kokken. Mit besonderem Dank an Ass. Dr. Thomas Valentin (Universitätsklinik für Innere Medizin Graz)

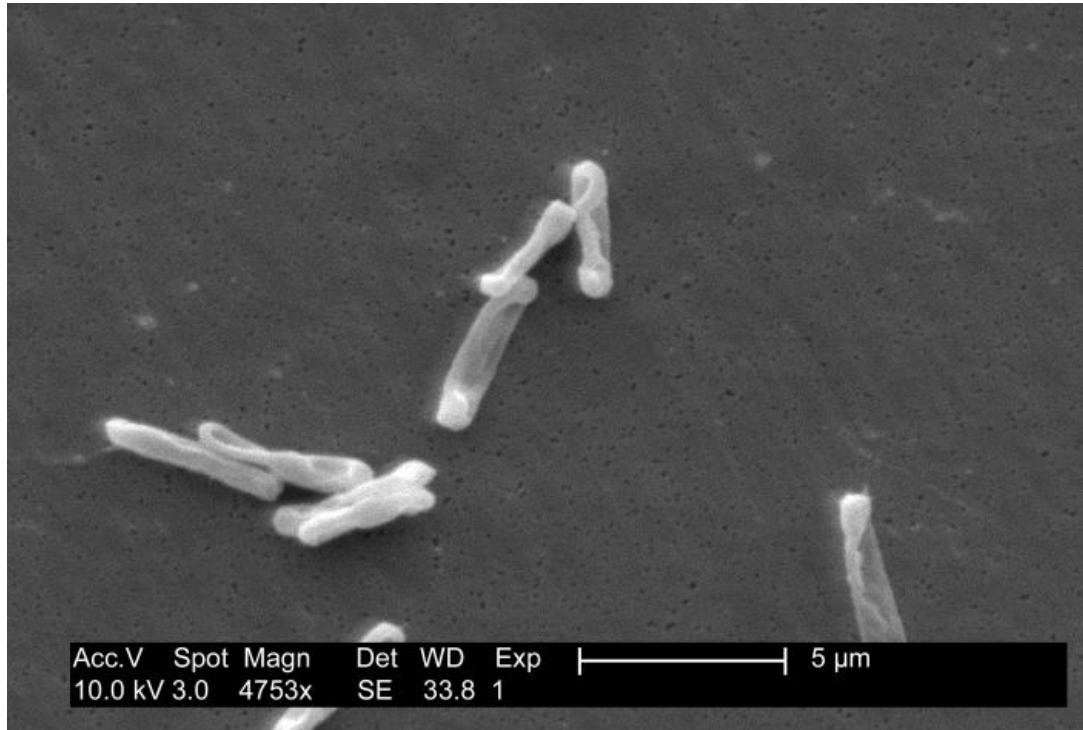


Abbildung 3: Elektronenmikroskopische Aufnahme von *C. difficile* (CDC/Lois S. Wiggs; <http://phil.cdc.gov/phil/home.asp>)

1.2.1 Toxine

Die Symptome einer *C. difficile* assoziierten Erkrankung werden nicht durch den Keim selbst, sondern durch die von ihm produzierten Toxine, die als eigentliche Pathogenitätsfaktoren gelten, hervorgerufen. *C. difficile* bildet zwei Arten von Toxinen. Toxin A ist ein Enterotoxin, welches in erster Linie für den Durchfall und den Entzündungsprozess im Darm verantwortlich ist. Toxin B ist ein Zytotoxin, welches die Zellstruktur schädigt. Der Großteil der *C. difficile* Stämme trägt beide Toxine. Toxin A und Toxin B entfalten ihre Pathogenität durch synergistisches Zusammenwirken. Als weiterer Pathogenitätsfaktor wird ein sogenanntes „binäres Toxin“ angenommen, dessen Rolle allerdings noch nicht vollständig geklärt ist. Dieses binäre Toxin ist eine Aktin-spezifische ADP Ribosyltransferase und wurde bislang bei etwa 6% aller Clostridien Stämme nachgewiesen. Das binäre Toxin findet sich vor allem beim hochvirulenten Ribotyp O27, der für epidemische Ausbrüche von schweren *C. difficile* Infektionen in den USA, in Kanada, in Japan und in einigen europäischen Ländern verantwortlich ist. Es wird vermutet, dass das binäre Toxin synergistisch zu Toxin A und Toxin B wirkt und auf diese Weise zu schweren Darmentzündungen führt. (Barth, Aktories et al. 2004; Barbut, Decre et al. 2005) Nachdem das Toxin vom Bakterium freigesetzt wurde, bindet es an spezifische Rezeptoren an der Oberfläche der Enterozyten. Dieser Toxin-Rezeptor Komplex wird endolysiert. Innerhalb der Zelle entfaltet das Toxin seine pathogene Wirkung. Es kommt zur Monoglykosilierung von GTPasen und ATPasen und somit zur Zerstörung des Aktinzytoskeletts der Enterozyten, was in der Folge zum Zelltod führt. (Just and Gerhard 2004)

Die kodierenden Gene für die Toxine sitzen auf dem sogenannten „Pathogenitätslocus“. Auf diesem sitzen nicht nur die beiden Gene, welche die Toxine kodieren, *tcdA* und *tcdB*, sondern auch zwei Regulatorgene, *tcdC* und *tcdD*. Das *tcdC* Gen ist verantwortlich für die Downregulation der Expression von *tcdA* und *tcdB*. Bei Polymorphismen oder Deletionen des *tcdC* Locus, wie sie beim Ribotyp O27 zu finden sind, kommt es zur vermehrten Produktion von Toxin A und Toxin B. Anhand der Genvarianten der produzierten Toxine lässt sich *C. difficile* in 24 Subtypen unterteilen. Die Typisierung der Toxine erfolgt anhand einer Sequenzvariationsanalyse der Toxin A und Toxin B Gene sowie deren Regulatorgenen. (Rupnik, Avesani et al. 1998)

1.3 Übertragung und Pathogenese

Man nimmt an dass etwa 3% aller gesunden Erwachsenen *C. difficile* unbemerkt im Darm tragen. (Bartlett 2002) Auch im Gastrointestinaltrakt von Tieren kommt das Bakterium vor. Bei mangelnder Hygiene kann es zur fäkaloralen Sporenübertragung kommen.

Schon Hall und O'Toole entdeckten *C. difficile* vor allem bei gesunden Neugeborenen. Heute nimmt man an dass bis zu 80 % der gesunden Neugeborenen kolonisiert sind. (Bartlett 2002) Diese hohe Kolonisationsrate ist die Folge der noch unreifen und wenig stabilen normalen Darmflora. (Larson, Barclay et al. 1982) Warum aber zeigen Neugeborene trotz hoher Toxinkonzentrationen im Stuhl keine Krankheitssymptome? Man geht davon aus, dass die *C. difficile* Toxin bindenden Rezeptoren auf der Oberfläche der noch unreifen Enterozyten fehlen und es dadurch, trotz der hohen Kolonisationsrate und Toxinproduktion, nicht zum Krankheitsausbruch kommt. (Eglow, Pothoulakis et al. 1992; Kelly and LaMont 1998)

Damit es zum Ausbruch einer *C. difficile* assoziierten Erkrankung, einer sogenannten CDAD – „*C. difficile* associated disease“- kommt, sind neben der Sporenübertragung und der Toxinwirkung noch weitere Faktoren ausschlaggebend. Der menschliche Verdauungstrakt besitzt eine Barrierefunktion welche das Eindringen von Erregern verhindern soll. Diese „Schutzeinrichtung“ besteht aus der intestinalen Flora, der Magensäure, dem mukosaassoziierten Immunsystem und der Schleimhaut selbst. Erst wenn diese Barriere geschädigt wird, beispielsweise durch Antibiotika oder Zytostatika, wird eine Kolonisation durch pathogene Keime, wie etwa *C. difficile*, ermöglicht. Kommt dann noch ein erhöhtes Expositionsrisiko, beispielsweise ein Aufenthalt in einem Krankenhaus oder Pflegeheim hinzu, ist der Weg für eine *C. difficile* assoziierte Erkrankung geebnet. Es wird angenommen, dass in Gesundheitseinrichtungen 15% bis 21% der Patienten kolonisiert sind. (McFarland, Mulligan et al. 1989; McFarland 1995) Zudem findet man *C. difficile* Sporen auf diversen Oberflächen, wie Bettgestängen, Fußböden, Toiletten, Türklinken sowie auf den Händen und der Bekleidung des Krankenhauspersonals. Der Großteil der Übertragungen findet vermutlich durch die kontaminierten Hände des Krankenhauspersonals statt, da eine alleinige Händedesinfektion mit den gebräulichen Desinfektionsmitteln nicht ausreichend ist, um die Keime und Sporen abzutöten. Die Wahrscheinlichkeit einer Kolonisation steigt mit der Anzahl der

eingenenommenen Antibiotika und der Dauer des Krankenhausaufenthaltes. Ein Patient mit einer *C. difficile* assoziierten Erkrankung und seine Umgebung stellen ein hohes Infektionsrisiko dar. Pro Gramm Stuhl werden etwa 10^7 bis 10^9 Organismen ausgeschieden. (Widmer A 1995) Die höchste Umgebungscontamination (>90%) findet sich bei inkontinenten Patienten mit einer floriden Clostridien Infektion. (Samore, Venkataraman et al. 1996) Aber auch bei asymptomatischen Patienten lässt sich *C. difficile*, wenn auch selten, in den Umgebungsabstrichen nachweisen. Es gab Studien, im Rahmen derer die Umgebung kolonisierter Krankenhauspatienten untersucht wurde. Diese zeigten, dass die Kontamination der Umgebung in Zimmern von asymptomatischen Trägern wesentlich höher war, als die in Zimmern von nicht kolonisierten Patienten. Die dichteste Kontamination findet sich vor allem auf den Fußböden, den Waschräumen und den Toiletten der Zimmer von kolonisierten Patienten. (McCoubrey, Starr et al. 2003) Idealerweise sollten Krankenhauspatienten mit einer nachgewiesenen *C. difficile* Infektion in Einzelzimmer verlegt werden und das Personal auf möglichst gründliche Hygienemaßnahmen hingewiesen werden, um die Übertragung auf andere Patienten weitgehend zu verhindern.

Damit es zum Krankheitsausbruch kommt, ist also ein Zusammenspiel mehrerer Faktoren von Nöten. Zum Ersten kommt es, in erster Linie durch die Gabe von antimikrobiellen oder zytostatischen Substanzen, zu einer Veränderung der Mikroflora im Dickdarm. Danach kommt es nach Ingestion von Clostridien Sporen zum Ausreifen derselben unter anaeroben Bedingungen im Dünndarm. Die ausgereiften Formen beginnen sodann im Dickdarm mit der Produktion der beiden Toxine, welche zur Inflammation der Colonmukosa und in der Folge zu den typischen Krankheitssymptomen führen. Zusätzlich spielt auch die Immunabwehr des Betroffenen eine Rolle. Davon hängt ab, ob die Kolonisation mit *C. difficile* zum Krankheitsausbruch führt oder ob der Patient ein asymptomatischer Träger bleibt. Zudem spielt die individuelle Immunantwort auch hinsichtlich der Schwere der Erkrankung eine wichtige Rolle. Das Spektrum reicht von relativ moderaten Durchfällen bis hin zur schweren pseudomembranösen Colitis mit lebensbedrohlichen Komplikationen. (Kyne, Farrell et al. 2001) Im Tierversuch mit primär „keimfreien“ Mäusen, die mit *C. difficile* kolonisiert wurden, zeigte sich, dass die Clostridien, nachdem man den Mäusen eine normale Colonflora von gesunden Mäusen übertragen hatte, wiederum eliminiert wurde. Es folgt der Schluss, dass eine normale

Darmflora einen der wichtigsten präventiven Faktoren für eine Kolonisation beziehungsweise Infektion mit *C. difficile* darstellt. (Wilson and Freter 1986)

1.4 Risikofaktoren für eine *C. difficile* Infektion

Als maßgeblicher Risikofaktor für eine Infektion mit *C. difficile* gilt die Einnahme von Antibiotika. Vor allem beim Einsatz von Clindamycin, Cephalosporinen, Penicillinen und Fluorochinolonen der 3. und 4. Generation kommt es häufig zum Auftreten von symptomatischen *C. difficile* Infektionen. Durch die Antibiotika kommt es zur Schädigung der physiologischen Darmflora, durch die unter normalen Umständen eine Kolonisation und Überwucherung mit pathogenen Keimen verhindert wird. (Owens, Donskey et al. 2008) Heutzutage gelten vor allem Cephalosporine als maßgeblicher Auslöser für *C. difficile* Infektionen, da sie relativ häufig verwendet werden. (Bartlett 2008) Prinzipiell sind aber alle Antibiotika in der Lage eine Clostridien Infektion nach sich zu ziehen, selbst die zur Therapie von symptomatischen Clostridien Infektionen eingesetzten Substanzen Metronidazol und Vancomycin. Vancomycin beispielsweise ist nicht in der Lage die Sporen zu bekämpfen. Zudem schädigt es die intestinale Standortflora. Somit kommt es nach Absetzen von Vancomycin häufig zum Aufflammen einer *C. difficile* Infektion, da die im Darm verbleibenden Sporen wiederum in die vegetativen Formen übergehen.

Das Infektionsrisiko steigt mit der Dauer der Antibiotikatherapie und der Anzahl der verabreichten Antibiotika. Der Durchfall beginnt meist etwa 4 bis 10 Tage nach Beginn der Antibiotikaeinnahme, kann aber auch noch bis zu 2 Monate nach Beendigung der antimikrobiellen Therapie auftreten.

Die folgende Tabelle zeigt die Antibiotika, bei deren Verwendung es häufig, weniger häufig oder eher selten zum Auftreten von *C. difficile* assoziierter Diarrhoe oder Colitis kommt. (siehe Tabelle 1)

Häufig	Weniger häufig	Selten bis nie
Ampicillin	Tetracycline	Aminoglycoside
Amoxicillin	Sulfonamide	Metronidazol
Cephalosporine	Makrolide	Bacitracin
Clindamycin	Chloramphenicol	Vancomycin
Flurochinolone der 3. und 4. Generation	Trimethoprim	
	Fluorochinolone der 1. und 2. Generation	

Tabelle 1: Antimikrobielle Substanzen die in der Lage sind, häufig, weniger häufig oder selten bis nie *C. difficile* assoziierte Erkrankungen nach sich zu ziehen. (Adaptiert nach Kelly CP 1993)

Eine CDAD kann jedoch auch ohne vorangegangene antimikrobielle Therapie entstehen. Neben der Therapie mit Antibiotika als Hauptrisikofaktor, gibt es noch eine Reihe anderer Faktoren, die das Auftreten einer *C. difficile* assoziierten Erkrankung begünstigen können. Als ein wichtiger Risikofaktor gilt das Alter. Untersuchungen zeigten, dass *C. difficile* assoziierte Erkrankungen gehäuft bei Patienten, die über 65 Jahre alt sind, vorkommen. (Djuretic, Wall et al. 1999) Wobei nicht nur das Alter an sich als Risikofaktor zu identifizieren ist, sondern alle zusätzlichen Faktoren, die mit höherem Alter verbunden sind. Die Zahl der Krankenhausaufenthalte sowie die Aufenthaltsdauer steigen mit dem Alter. Weiters werden Antibiotika bei älteren Menschen mit Verdacht auf bakterielle Infektionen häufiger verabreicht, als bei jungen gesunden Patienten. Die Fähigkeit des Immunsystems, Erreger erkennen und phagozytieren zu können, nimmt bei älteren Menschen ab. Weiters steigt mit dem Alter die Zahl an Grunderkrankungen welche die Immunabwehr beeinflussen (z.B. Diabetes mellitus). Im Rahmen schwerer Grunderkrankungen und dem damit verbundenen längeren Aufenthalt in Gesundheitseinrichtungen erhöht sich das Risiko an einer Infektion mit *C. difficile* zu erkranken.

Weitere Risikofaktoren sind gastrointestinale Eingriffe, der Aufenthalt auf Intensivstationen und die Verwendung von nasogastralen Sonden. (Bignardi 1998) Protonenpumpeninhibitoren oder Medikamente, die zur Verminderung der Magensäure führen, waren als vermutlicher Risikofaktor für das Auftreten von Clostridien Infektionen umstritten. Aktuelle Studien zeigten jedoch, dass es einen Zusammenhang zwischen der

Einnahme von Protonenpumpeninhibitoren und dem Auftreten von *C. difficile* assoziierten Erkrankungen gibt. (McFarland, Beneda et al. 2007) Durch die Magensäure wird zwar nicht die Aufnahme der säureresistenten Sporen, sehr wohl jedoch die Aufnahme der vegetativen Formen verhindert.

Diese Risikofaktoren beeinflussen nicht nur das Auftreten einer Infektion, sondern auch deren Schwere, den Krankheitsverlauf und das Auftreten von Komplikationen. Neben Antibiotika sind auch Chemotherapeutika, vor allem in Kombination mit Antibiotika und Protonenpumpeninhibitoren, in der Lage, die Dickdarmflora zu beeinflussen und eine Überwucherung mit Clostridien zu begünstigen.

Untersuchungen an Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (Morbus Crohn, Colitis ulcerosa) zeigten, dass auch diese Erkrankungen das Auftreten einer Infektion mit *C. difficile* begünstigen können. (Bolton, Sherriff et al. 1980) Es wird angenommen, dass es durch den chronischen Entzündungsprozess im Colon zu einer Veränderung der physiologischen Darmflora kommt, die neben der Verwendung von immunsuppressiven Medikamenten im Rahmen dieser Erkrankungen maßgeblich zur Erhöhung des Infektionsrisikos führt.

Auch höhergradige Nieren- und Leberfunktionsstörungen, hämatologische Systemerkrankungen und solide Tumoren gelten als Risikofaktoren für den Erwerb einer CDAD.

1.5 CDAD – *C. difficile* associated diseases

Das klinische Spektrum einer *C. difficile* Infektion reicht von milder selbstlimitierender Diarrhoe bis hin zu schweren Verlaufsformen mit toxischem Megacolon und Darmperforation, die bis zum Tod des betroffenen Patienten führen können. Nur toxinproduzierende Clostridienstämme sind in der Lage eine symptomatische Infektion auszulösen. Zu den durch *C. difficile* hervorgerufenen Erkrankungen zählen die pseudomembranöse Colitis (PMC), die Antibiotika assoziierte Diarrhoe (AAD) und die Antibiotika assoziierte Colitis (AAC). Zusammengefasst werden diese Erkrankungen unter dem Begriff CDAD – „*C. difficile* assoziierte Erkrankungen“.

CDAD	<i>C. difficile</i> assoziierte Erkrankungen
AAD	Antibiotika Assoziierte Diarrhoe
AAC	Antibiotika Assoziierte Colitis
PMC	Pseudomembranöse Colitis
CDAC	<i>C. difficile</i> assoziierte Colitis

Tabelle 2: Auflistung der durch *C. difficile* ausgelösten Erkrankungen.

Die typischen Symptome einer CDAD sind wässriger, faulig riechender Durchfall, abdominelle Schmerzen und Krämpfe. Assoziierte Symptome sind Fieber, Übelkeit, Erbrechen sowie allgemeines Unwohlsein.

Bei der schwersten Verlaufsform, der pseudomembranösen Colitis, kommt es durch Fibrinausschwitzung aus der geschädigten Dickdarmschleimhaut zusammen mit Leukozyten und nekrotischen Darmzellen zur Ausbildung sogenannter „Pseudomembranen“.

Zu den Risikofaktoren für eine *C. difficile* assoziierte Erkrankung zählen, wie bereits erwähnt, alle Faktoren, welche die gastrointestinale Barriere stören und das Eindringen pathogener Organismen ermöglichen. Antibiotika, Zytostatika, Antazida, alle immunsupprimierenden Grundkrankheiten sowie Medikamente und hohes Alter stellen solche Faktoren dar.

1.5.1 AAD – Antibiotika assoziierte Diarrhoe

Durchfall ist die häufigste Nebenwirkung bei der Einnahme von Antibiotika und ist definiert durch mehr als drei weiche oder flüssige Stühle pro Tag. Der Durchfall kann einige Stunden nach Beginn aber auch noch 2 Monate nach Beendigung der antimikrobiellen Therapie auftreten.

Antibiotika assoziierte Diarrhoe hat neben der intestinalen Überwucherung mit *C. difficile* noch andere, wesentlich häufigere Ursachen. Nur etwa 10-20% der Antibiotika assoziierten Durchfälle werden durch *C. difficile* ausgelöst. (Reisinger, Lademann et al. 2004) Der häufigste Mechanismus, der zu Durchfall unter Antibiotikaeinnahme führt, ist die Beeinflussung der intestinalen Mikroflora und deren Fähigkeit, nicht resorbierbare

Kohlenhydrate zu fermentieren, was in der Folge zur Kumulation der Kohlenhydrate und osmotischen Diarrhoe führt. Auch der mangelnde Abbau von im Ileum nicht resorbierten primären zu sekundären Gallensäuren durch Keime der physiologischen Darmflora kann unter Antibiotikaeinnahme vermutlich zu Durchfall führen. Es sammeln sich vermehrt primäre Gallensäuren an, die im Colon stark sekretorisch wirken. Weiters kommt es durch bestimmte Antibiotika zur direkten Beeinflussung der gastrointestinalen Motilität. So kommt es beispielsweise bei Einnahme des Makrolidantibiotikums Erythromycin durch Motilin-ähnliche Effekte zur funktionellen Diarrhoe. Auch Clavulansäure kann die gastrointestinale Motilität beeinflussen. Weiters kann es unter Antibiotikatherapie neben der Überwucherung mit *C. difficile* auch zum Überwiegen anderer Keime, wie beispielsweise Salmonellen oder *Staphylokokkus aureus* kommen. Ähnlich schwere Symptome wie bei einer Enterocolitis durch *C. difficile* können auch bei Vorliegen von *Clostridium perfringens*, *Klebsiella oxytoca* oder *Salmonella spp.* auftreten. Wenn *C. difficile* als Auslöser einer Antibiotika assoziierten Diarrhoe nicht identifizierbar ist, sollten auch diese Keime in Betracht gezogen werden. Zu einer Überwucherung mit *Klebsiella oxytoca* kommt es zumeist nach oraler Therapie mit Penicillinen oder Diclofenac. (Högenauer, Langner et al. 2006) Das Auftreten von Antibiotika assoziierter Diarrhoe ist abhängig von der Dauer der antibiotischen Therapie sowie von der Wahl des Antibiotikums. So sind beispielsweise Ampicillin, Amoxicillin Clavulansäure oder diverse Cephalosporine eher in der Lage Durchfall nach sich zu ziehen als andere Antibiotika wie beispielsweise Fluorochinolone oder Trimethoprim. Die meisten Formen von Antibiotika assoziierter Diarrhoe sind zwar subjektiv unangenehm jedoch harmlos und nach einigen Tagen selbstlimitierend. Unterstützend können Probiotika wie *Saccharomyces boulardii* (Yomogi®) oder *Enterococcus SF68* (Bioflorin®) zur Wiederherstellung der intestinalen Mikroflora oder in hartnäckigen Fällen auch Motilitätshemmer wie Loperamid (Imodium®) zum Einsatz kommen. Handelt es sich bei Antibiotika assoziiertem Durchfall jedoch tatsächlich um eine Überwucherung mit *C. difficile*, so hat man es mit einer schwerwiegenderen Erkrankung zu tun. Im Gegensatz zu dem durch die oben genannten Mechanismen hervorgerufenen eher harmlosen Durchfall unter Antibiotikatherapie, kommt es bei einer Infektion mit *C. difficile* zu wesentlich eindrucksvolleren Symptomen. Die Durchfälle sind zum Teil massiv flüssig, schleimig oder sogar blutig, zusätzlich kann es zu kolikartigen Krämpfen und Fieberschüben kommen. Weiters findet man in der Colonoskopie im Gegensatz zu Antibiotika assoziiertem Durchfall auch morphologische Substrate, bis hin zur pseudomembranösen Colitis.

Motilitätshemmer wie Loperamid (Imodium®) sind bei einer Infektion mit *C. difficile* kontraindiziert, da es im schlimmsten Fall zum toxischen Megakolon, einer der gefürchtetsten Komplikationen im Rahmen einer pseudomembranösen Colitis, kommen kann.

Die Therapie bei einer AAD beruht in erster Linie auf einem Absetzen des auslösenden Antibiotikums. Wenn aufgrund einer persistierenden Infektion ein Absetzen der Antibiose nicht möglich ist, muss auf ein anderes Antibiotikum gewechselt werden. Antibiotika, die mit einem geringeren Risiko verbunden sind, eine AAD auszulösen, sind beispielsweise Chinolone, Cotrimoxazol, Tetrazykline, Aminoglycoside, Metronidazol, Vancomycin, Linezolid und Sulfonamide. Bei einer symptomatischen durch *C. difficile* ausgelösten AAD kommt eine antibiotische Therapie mit Metronidazol oder Vancomycin als Therapie der ersten Wahl in Frage. Weiters können Teicoplanin, Fusidinsäure oder Bacitracin zum Einsatz kommen. (Reisinger, Lademann et al. 2004). Unterstützend wirkt die Gabe von *Saccharomyces boulardii* (Yomogi®), welches in der Lage ist, die von *C. difficile* produzierten Toxine proteolytisch zu verdauen. Gemeinsam mit einer gezielten antimikrobiellen Therapie kann durch *Saccharomyces boulardii* (Yomogi®) die Rezidivrate vermindert werden. (McFarland, Surawicz et al. 1994)

1.5.2 PMC - Pseudomembranöse Colitis

Die pseudomembranöse Colitis war vor Anbeginn der Antibiotikaära eine seltene und weitgehend unbekannte Entität. Als Namensgeber für diese Form der Colitis dient ein Exsudat aus Detritus, Fibrin und Granulozyten, das sich wie eine „Pseudomembran“ in Form von gräulich gelblichen Plaques mit einem Durchmesser von 2 bis 10 mm über die entzündete und erosive Colonmukosa legt und colonoskopisch oft sehr eindrucksvoll in Erscheinung treten kann. (siehe Abbildung 4, Abbildung 5) Wenn außer der colonalen Mukosa auch Dünndarmabschnitte beteiligt sind spricht man von einer pseudomembranösen Enterocolitis. Bei alleiniger Beteiligung des Dünndarms spricht man von einer pseudomembranösen Enteritis.

Bereits im Jahre 1893 wurden bei der Autopsie einer 22-jährigen Patientin, die nach einer Magenoperation an schweren Durchfällen litt und in der Folge verstarb, „diphtheritische Membranen“ im Dünndarm beschrieben. (Finney 1893)

Abgesehen von *C. difficile* Infektionen gibt es auch noch andere Ursachen, die zu einer pseudomembranösen Colitis führen können. So wurden vor Identifikation von *C. difficile* als maßgeblicher Auslöser für die pseudomembranöse Colitis abdominelle Eingriffe und Ischämien im Intestinum als Ursache dafür angenommen. Der Keim der am häufigsten bei Patienten, die nach abdominalen Eingriffen an einer pseudomembranösen Colitis litten, gefunden wurde, war *Staphylokokkus aureus*. Vor Identifikation von *C. difficile* als Erreger von Durchfallserkrankungen nach Antibiotikagabe in den 70er Jahren, war *Staphylokokkus aureus* der Keim, der maßgeblich für die gastrointestinale Symptomatik im Rahmen von antimikrobiellen Therapien verantwortlich gemacht wurde. Zudem gelten neben chirurgischen Eingriffen im Bauchraum und im Becken auch Frakturen im Bereich der Wirbelsäule, intestinale Obstruktionen, Colonkarzinome, Leukämien, schwere Verbrennungen, Schock, Urämie, Schwermetallvergiftungen, das hämolytisch-urämisches Syndrom, ischämische Herzerkrankungen, Morbus Crohn, Morbus Hirschsprung sowie schwere Infektionen als Risikofaktoren für die Entwicklung einer pseudomembranösen Colitis.

Die charakteristischen erhabenen gelblich weißen Plaques sind im Anfangsstadium punktförmig und konfluieren im Verlauf der Erkrankung zu größeren Pseudomembranen, die in der Folge auch abschliffen können. Die Pseudomembranen finden sich zumeist nicht nur segmental sondern in allen Colonabschnitten. Histologisch findet man die Pseudomembranen bestehend aus Fibrin, Mucin, abgeschilferten Epithelzellen und Entzündungszellen, über oberflächlichen Ulzeration der Schleimhaut. (siehe Abbildung 6) In der Lamina propria zeigen sich Entzündungsinfiltrate. Im schlimmsten Fall kommt es zu Nekrosen, die bis in die Lamina propria reichen.

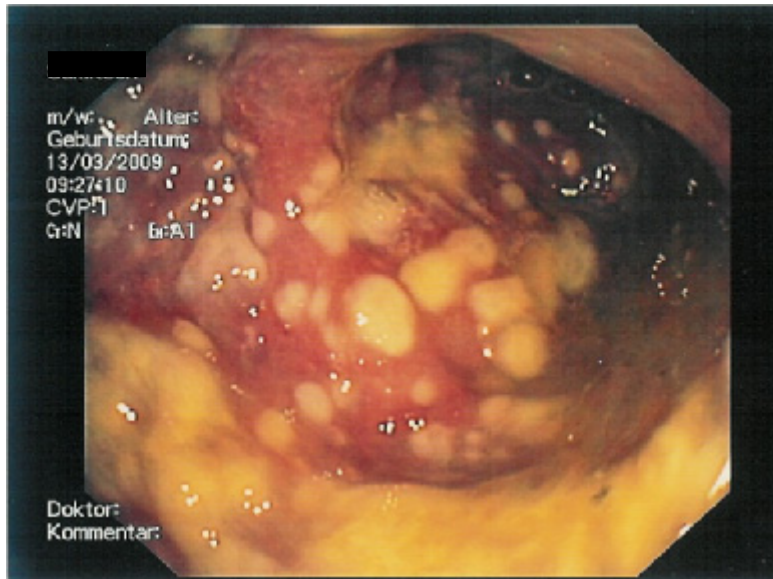


Abbildung 4: Endoskopische Darstellung einer pseudomembranösen Colitis. Es zeigt sich eine deutliche Entzündung der Mucosa, sowie die aufgelagerten gelblichen zum Teil plaqueförmigen und konfluierenden Pseudomembranen.

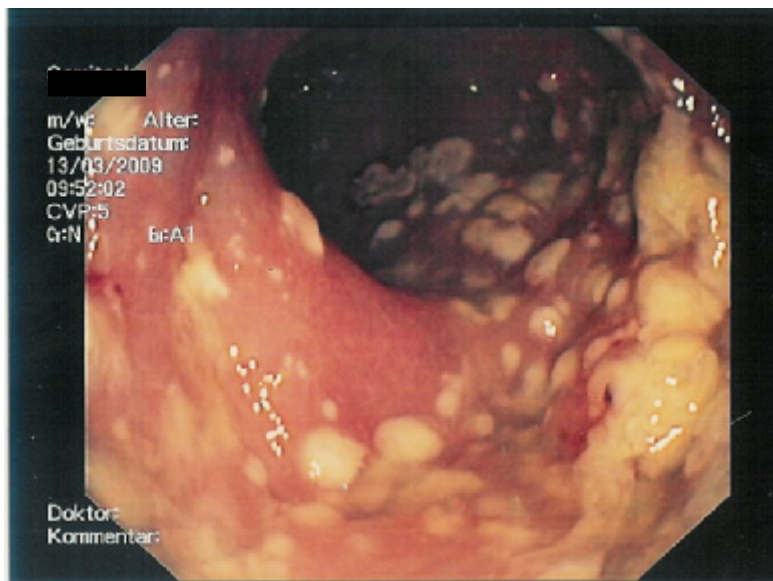


Abbildung 5: Endoskopische Darstellung einer pseudomembranösen Colitis. Mit besonderem Dank an Univ.-Prof. Dr. Christoph Högenauer (Abteilung für Gastroenterologie und Hepatologie, Universitätsklinik für Innere Medizin Graz)

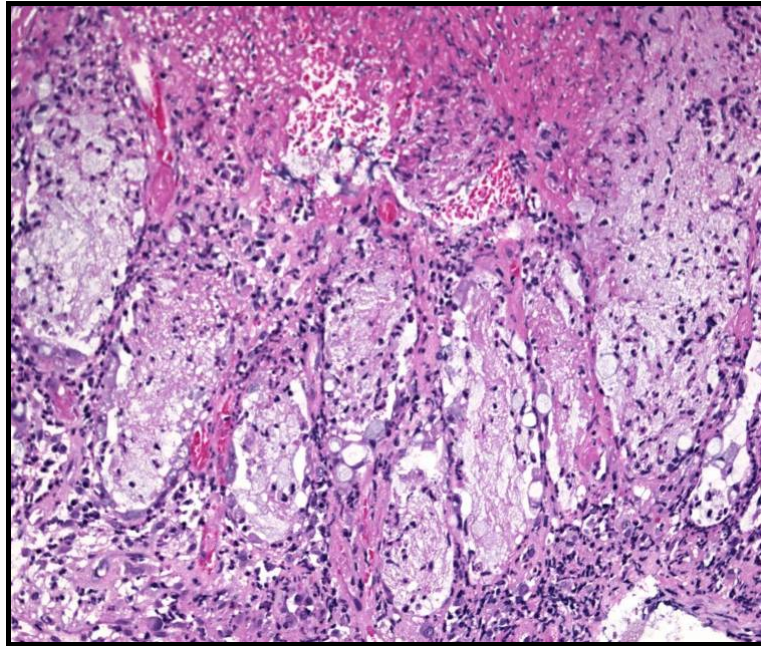


Abbildung 6: Histologisches Bild einer pseudomembranösen Colitis. Mit besonderem Dank an Univ. Doz. Dr. Cord Langner (Institut für Pathologie der Medizinischen Universität Graz)

Die klinischen Symptome einer pseudomembranösen Colitis reichen von wässrigen Durchfällen über abdominelle Schmerzen bis hin zu schweren Krämpfen. Bei den meisten Patienten finden sich zudem Fieber und erhöhte Leukozytenzahlen im Blut. Auch im Stuhl finden sich Leukozyten und gelegentlich okkultes Blut. In sehr schweren Fällen kann es zu Komplikationen wie paralytischem Ileus, toxischem Megacolon, SIRS, Sepsis, Dehydration oder Hypoalbuminämie mit Anasarka kommen. In seltenen Fällen wurde auch von Arthritiden der großen Gelenke berichtet. (Mermel and Osborn 1989; Putterman and Rubinow 1993) Zudem kann es im Rahmen eines SIRS oder einer Sepsis zum akuten Nierenversagen und in der Folge zum Multiorganversagen kommen. Diagnostiziert wird eine pseudomembranöse Colitis in erster Linie anhand der klinischen Symptomatik und dem Nachweis von *C. difficile* im Stuhl. Im Abdomen leer Röntgen lassen sich indirekte Hinweise wie ödematöse Verdickungen der Colonwand, unregelmäßige Haustrenzeichnung und Erweiterungen sämtlicher Colonabschnitte darstellen. (siehe Abbildung 7) Im CT finden sich Wandverdickungen vor allem im linken Colon oder über den gesamten Colonverlauf reichend. (siehe Abbildung 8) In manchen Fällen ist auch freie Flüssigkeit bzw. ein Aszites. zu sehen. Endoskopisch, im Rahmen einer Sigmoidoskopie oder einer Colonoskopie lassen sich die Pseudomembranen makroskopisch nachweisen. (siehe Abbildung 4, Abbildung 5) In den meisten Fällen ist eine Sigmoidoskopie zur Diagnosefindung ausreichend, da bei den meisten Patienten eine Beteiligung der distalen Colonabschnitte zu finden ist. Beim Großteil aller pseudomembranösen Colitiden lässt sich

C. difficile als auslösendes Agens identifizieren. Die Therapie erfolgt nach dem gleichen Schema wie bei Antibiotika assoziierter Diarrhoe durch *C. difficile*. Im Rahmen von Komplikationen kommen unterstützende Maßnahmen, wie intravenöse Flüssigkeitssubstitution, Elektrolytausgleich und eventuell parenterale Ernährung zum Einsatz. Bei fulminanten pseudomembranösen Kolitiden ist als ultima ratio eine totale oder subtotale Colectomie von Nöten. Ein operatives Vorgehen muss bei Versagen der konservativen Therapie und schwerwiegenden Komplikationen wie toxischem Megacolon, Peritonitis, Sepsis und fortschreitendem Organversagen in Erwägung gezogen werden.



Abbildung 7: Abdomen leer Röntgen eines toxischen Megacolon bei CDAD



Abbildung 8: CT Aufnahme einer pseudomembranösen Colitis

1.6 Diagnostik

Der Verdacht auf eine Infektion mit *C. difficile* besteht bei Durchfall und abdominellen Beschwerden im Rahmen oder nach einer Antibiotikatherapie. Bei jedem Durchfall, der innerhalb von 3 Monaten nach Antibiotikaeinnahme oder im Rahmen eines stationären Aufenthalts auftritt, sollte an eine Clostridieninfektion gedacht werden.

Eine Unterscheidung zwischen einer durch *C. difficile* ausgelösten AAD und einer durch andere Mechanismen ausgelösten Diarrhoe im Rahmen einer antimikrobiellen Therapie lässt sich weitgehend auch anhand der klinischen Symptomatik treffen. (Siehe Tabelle 3)

Bei einer Infektion mit *C. difficile* ist die Symptomatik schwerwiegender mit hartnäckigen flüssigen, faulig riechenden Durchfällen, abdominellen Krämpfen und Fieber. Es zeigen sich eventuell erhöhte Entzündungsparameter und eine Hypalbuminämie im Labor sowie Leukozyten im Stuhl. Im Rahmen einer Colonoskopie finden sich bei einer symptomatischen Clostridien Infektion typische morphologische Substrate. In den meisten Fällen ist die Sigmoidoskopie ausreichend, da bei einem sehr großen Teil der Patienten die distalen Colonabschnitte beteiligt sind. Bei unzureichenden Ergebnissen ist eine Colonoskopie in Erwägung zu ziehen, da die Läsionen in vielen Fällen lediglich in den rechten Colonabschnitten zu finden sind. Bei fulminanten Colitiden besteht jedoch ein erhöhtes Perforationsrisiko im Rahmen einer endoskopischen Untersuchung. Weitere bildgebende Verfahren, die jedoch eher selten zu Diagnostik einer *C. difficile* assoziierten Erkrankung herangezogen werden, sind Röntgenuntersuchungen des Abdomens oder Computertomographien des Abdomens. Im abdominellen CT sieht man unter Umständen verdickte Colonwandanteile und submukosale Ödeme. Der Dünndarm ist bei einer *C. difficile* assoziierten Erkrankung normalerweise nicht involviert.

	<i>C. difficile</i> assoziierte Diarrhoe	Antibiotika assoziierte Diarrhoe anderer Genese
Auslösendes Antibiotikum	Clindamycin, Cephalosporine Aminopenicilline	Cephalosporine Amoxicillin-Clavulansäure Makrolide
Vorgeschichte	Keine AAD in der Vorgeschichte	Häufig Diarrhoe unter vorheriger Antibiotikatherapie
Klinisches Bild	Schwere wässrige Diarrhoe, Colitis, Krämpfe, Fieber, Leukozyten im Stuhl	moderate Symptomatik, leichte Diarrhoe mit weichem Stuhl
Bildgebung	Morphologische Substrate in CT und Colonoskopie	Unauffällige Bildgebung
Komplikationen	Hypalbuminämie, Anasarka, toxisches Megacolon, Perforationen, rekurrende Infektionen	keine, eventuell Dehydration
<i>C. difficile</i> Toxintest	positiv	negativ

Tabelle 3: Unterschiede zwischen *C. difficile* assoziierter Diarrhoe und AAD anderer Genese (Adaptiert nach Bartlett 2002; Högenauer 2005).

Bildgebende Verfahren zur Diagnostik einer Clostridien Infektion kommen mittlerweile eher selten zum Einsatz, da der Nachweis in erster Linie labortechnisch mittels Toxinnachweis im Stuhl oder Anzucht von Stuhlkulturen erfolgt. Getestet werden primär Patienten die symptomatisch sind, also an Durchfall leiden. Wie bereits erwähnt ist die Rolle der asymptomatischen Carrier im Krankenhausbereich nicht zu unterschätzen. Dennoch werden bei Patienten mit normalem Stuhlverhalten in der Regel keine Stuhluntersuchungen auf *C. difficile* durchgeführt, da diese auch keiner spezifischen antimikrobiellen Therapie bedürfen.

Es gibt zahlreiche Möglichkeiten, um eine Infektion mit *C. difficile* nachzuweisen. Der Goldstandard um eine Clostridien Infektion nachzuweisen ist der Zytotoxizitätstest mittels Zellkulturen. Hierbei wird das von Clostridien gebildete Toxin B nachgewiesen. Steril filtrierte verdünnte Stuhlproben werden auf Zellkulturen aufgebracht und inkubiert. Durch

die Einwirkung des Toxins kommt es zur Bildung charakteristischer Rundzellen. Um diesen zytotoxischen Effekt zu neutralisieren, wird ein *C. difficile* Antitoxin und ein kreuzreagierendes *Clostridium sordelli* Antitoxin verwendet. Anhand des Antitoxintiters lässt sich ein positives oder negatives Testresultat ablesen. Trotz der hohen Sensitivität, kommt diese Nachweismethode aufgrund des immensen Zeitaufwands und der hohen Kosten im Routinelabor nicht zum Einsatz. Die gebräuchlichste Methode sind Enzymimmunoassays, die als „Toxinschnelltests“ den Toxinnachweis von *C. difficile* direkt aus dem Stuhl ermöglichen. Enzymimmunoassays sind einfach und schnell durchzuführen und im Vergleich zu anderen Testsystemen relativ kostengünstig. Ein positiver Toxinnachweis ist allerdings immer nur gemeinsam mit der klinischen Symptomatik zu interpretieren. Der alleinige Nachweis von Toxinen ist nicht beweisend für eine floride Infektion und stellt an sich keine Indikation für eine gezielte Therapie dar, da der Toxintest auch ein bis zwei Wochen nach Abklingen der akuten Symptomatik noch positiv sein kann oder es sich um einen asymptomatischen Träger handelt, der *C. difficile* unbemerkt im Darm trägt.

Es gibt Testkits, die lediglich das Toxin A nachweisen. Am gebräuchlichsten sind jedoch derzeit Testsysteme, die sowohl Toxin A als auch Toxin B nachweisen, da es Clostridien Stämme gibt, die nur Toxin B produzieren. Da die Toxinmenge in den Stuhlproben mit der Zeit abnimmt, kann es mitunter zu falsch negativen Testresultaten kommen. Wenn der Toxintest bei Patienten, die eindeutige Symptome einer Clostridien Infektion aufweisen, kein positives Ergebnis bringt, sollten im Anschluss daran noch weitere Nachweisverfahren zur Diagnosesicherung zum Einsatz kommen.

Eine sehr zuverlässige jedoch eher aufwändige Methode um *C. difficile* nachzuweisen sind anaerobe Stuhlkulturen auf speziellen Agar Platten. Auf diesen Cefoxitin, Cycloserin und Fructose haltigen Medien erfolgt der Nachweis von *C. difficile* mit einer hohen Sensitivität. Allerdings lässt das Anwachsen von *C. difficile* auf den Kulturplatten keinen Rückschluss auf das Vorliegen einer *C. difficile* assoziierten Erkrankung zu, da die Anzahl der asymptomatischen Träger in Gesundheitseinrichtungen relativ hoch ist. Weiters wachsen auf den Platten sowohl toxinproduzierende als auch nicht toxinproduzierende Stämme an. Um die Stämme differenzieren zu können, besteht weiters die Möglichkeit einen Toxintest bei den angezüchteten Bakterienkolonien durchzuführen.

Eine zusätzliche Methode zum Nachweis beziehungsweise zur Genotypisierung der Keime ist die PCR, die Pulsfeld Gelelektrophorese oder die Multilocus-Sequenz-Analyse. Diese Methoden kommen in erster Linie bei *C. difficile* Epidemien zum Einsatz. Um die einzelnen Stämme zu charakterisieren bietet sich weiters die Möglichkeit der Toxinotypisierung. Hierbei werden Restriktionsschnittstellen innerhalb der Toxin-Gene nachgewiesen.

1.7 Therapie

Die Indikation zur Therapie einer *C. difficile* assoziierten Erkrankung wird bei Vorliegen der typischen Symptome in Kombination mit dem Nachweis einer Clostridien Infektion im Labor oder dem endoskopischen Nachweis einer PMC gestellt. Auch bei schwerer klinischer Symptomatik und begründetem Verdacht auf eine CDAD beginnt man initial eine antimikrobielle Therapie, auch wenn das Laborergebnis noch ausständig ist. (Bartlett 2002)

Der Schweregrad einer CDAD lässt sich anhand einiger festgelegter Parameter klassifizieren. Dazu zählen das Alter des Patienten, die Körpertemperatur, der Serum-Albuminspiegel, die Anzahl der Leukozyten im Blut, der endoskopische Nachweis von Pseudomembranen und der Aufenthalt auf einer Intensivstation. Anhand dieser Parameter lässt sich feststellen ob es sich um eine milde oder schwere Verlaufsform einer CDAD handelt.

Eine weitere Möglichkeit der Einteilung in schwere und milde Formen basiert auf der Anzahl der Leukozyten im Blut. Bei einer Leukozytose über 20.000/mm³ spricht man von einer schweren CDAD. (Sanford Guide 2007)

Die folgende Tabelle zeigt Parameter, die für eine schwere Ausprägungsform einer CDAD sprechen. (siehe Tabelle 4)

Parameter	Werte
Leukozytose	> 20.000 G/l
Laktat	> 2,2 mmol/l
Alter	> 65 Jahre
Toxisches Megacolon	+
Paralytischer Ileus	+
Fehlendes Ansprechen auf Therapie	+
Begleittherapie	Immunsuppressiva oder Chemotherapie
Hypotension/Schock/SIRS	+
Organversagen (NINS)	+
Notwendige Vasopressor Therapie	+
Schwere Begleiterkrankung	+
CDAD-Entstehung	Nosokomiale CDAD

Tabelle 4: Parameter, die auf eine schwere CDAD hinweisen

1.7.1 Allgemeine Maßnahmen

In erster Linie therapiert man eine symptomatische Clostridien Infektion indem man das vermutlich auslösende Antibiotikum absetzt, oder, sofern auf eine antimikrobielle Therapie nicht verzichtet werden kann, auf ein anderes Antibiotikum wechselt, welches mit einem geringeren Risiko vergesellschaftet ist, eine Clostridien Infektion auszulösen. Solche Antibiotika sind beispielsweise Aminoglycoside, Metronidazol, Vancomycin, Tetrazykline, Sulfonamide oder Makrolid Antibiotika. Bei Makrolid Antibiotika, wie beispielsweise Erythromycin, muss allerdings beachtet werden, dass diese wiederum in stände sind, durch direkte Beeinflussung der gastrointestinalen Motilität Durchfälle auszulösen. Weiters ist auf ausreichend Volumenzufuhr und einen ausgeglichenen Elektrolythaushalt zu achten. Motilitätshemmende Medikamente wie Loperamid (Imodium[®]) oder Opiatanalgetika sollten vermieden werden.

1.7.2 Medikamentöse Therapie

Die medikamentöse Therapie einer CDAD beschränkt sich weitgehend auf die Verwendung der beiden Antibiotika Metronidazol und Vancomycin, wobei Metronidazol als Therapie der ersten Wahl vorzuziehen ist, um das Auftreten von Vancomycin resistenten Enterokokken und Staphylokokken möglichst gering zu halten und Kosten zu sparen. Bei milden Verläufen kommt primär Metronidazol zum Einsatz. Bei Nichtansprechen auf Metronidazol, in der Schwangerschaft oder Stillzeit sollten Vancomycin oder andere Antibiotika verwendet werden. Wenn eine orale Antibiotikagabe nicht möglich ist, beispielsweise aufgrund eines paralytischen Ileus, besteht die Möglichkeit der intravenösen Gabe von Metronidazol, da Metronidazol auch wenn es intravenös verabreicht wird, zu 15% ins Darmlumen sezerniert wird.

Patienten mit schwerer CDAD sprechen besser auf das im Vergleich zu Metronidazol wesentlich teurere Vancomycin an. Auch bei Therapieversagen von Metronidazol wird auf Vancomycin umgestellt. Bei schweren, fulminanten Verläufen sollte in erster Linie Vancomycin verabreicht werden. Auch bei Infektionen mit dem neuen hochvirulenten Ribotyp 027 sprechen die Patienten auf Vancomycin besser an als auf Metronidazol. (Surawicz 2007) Eine Alternative bei Komplikationen wie etwa paralytischem Ileus sind Vancomycin-Einläufe, um die Antibiotika direkt an den Wirkort zu applizieren. Hierbei ist die maximale Wirkung jedoch lediglich in den distalen Colonabschnitten zu erwarten.

Neben Metronidazol und Vancomycin als Primärtherapie kommen bei CDAD auch noch Antibiotika wie Teicoplanin, Fusidinsäure oder Bacitracin zum Einsatz. (Gerding, Muto et al. 2008) Weiters gelten Rifaximin (Colidimin[®]), ein nicht absorbierbares Antibiotikum, und Nitazoxanid, eine Substanz zur Behandlung von intestinalen Parasiten, die in Österreich derzeit nicht erhältlich ist, als alternative Therapieoptionen. Eine weitere Alternative zur Behandlung von *C. difficile* Infektionen ist Tolevamer, eine Substanz die zwar keine antimikrobielle Wirkung besitzt, aber die von *C. difficile* gebildeten Toxine bindet.

Wenn sich auch nach wochenlangender Therapie mit Metronidazol oder Vancomycin die Durchfallssymptomatik nicht bessert, sollte an eine andere oder zusätzliche Ursache, wie

beispielsweise chronisch entzündliche Darmerkrankungen, eine mikroskopische Colitis, Reizdarmsyndrom oder Colitiden sonstiger Genese gedacht werden. (Ciarán P. Kelly 2008)

Auch die Gabe von Probiotika, wie beispielsweise Bifidusbakterien, Laktobazillen oder *Saccaromyces boulardii* (Yomogi[®]), kommt bei *C. difficile* Infektionen zum Einsatz, um die geschädigte intestinale Standortflora wiederherzustellen.

1.7.3 Chirurgische Therapie

Bei Komplikationen die im Rahmen einer fulminanten *C. difficile* assoziierten Erkrankung auftreten, kann bei Versagen der konservativen Therapie unter Umständen eine chirurgische Sanierung von Nöten sein. Indikationen für eine totale oder subtotale Kolektomie sind Perforationen, toxisches Megacolon, septischer Schock, beginnendes Organversagen und mangelndes Therapieansprechen bei schweren Verläufen nach zwei Tagen. Die Letalität bei solchen Eingriffen ist sehr hoch.

Beim toxischen Megacolon kommen enge laborchemische und radiologische Kontrollen zum Einsatz. Weiters sollten motilitätshemmende Medikamente und Opiate vermieden, eventuelle Elektrolytstörungen ausgeglichen, und die betroffenen Patienten parenteral ernährt werden.

1.7.4 Therapie bei rezidivierenden *C. difficile* Infektionen

Rezidivierende *C. difficile* Infektionen, wie sie in etwa 15-30% aller Fälle vorkommen, beruhen zumeist auf der fehlenden Wirksamkeit der eingesetzten Antibiotika gegen die resistenten Sporen beziehungsweise der weiter bestehenden Störung der intestinalen Standortflora. (Surawicz 2004; Maroo and Lamont 2006) Beim ersten Rezidiv beginnt man einen weiteren Zyklus mit Metronidazol oder Vancomycin. Bei häufigen Rezidiven kommen die folgenden Therapiekonzepte zum Einsatz.

Die Vancomycin „pulse and taper“ Therapie beruht darauf, kurzfristig hohe Dosen des Antibiotikums zu verabreichen und es anschließend schrittweise über Wochen zu reduzieren. Metronidazol sollte nicht als „pulse and taper“ Therapie verabreicht werden, da

eine Langzeitgabe von Metronidazol die Gefahr einer irreversiblen Neuropathie birgt. Die zusätzliche Gabe des Probiotikums *Saccharomyces boulardii* (Yomogi®), einer nicht pathogenen Hefe, kann den Erfolg der Therapie mit hochdosiertem Vancomycin verbessern. (Surawicz 2004)

Eine weitere Therapiemöglichkeit sind Toxinbinder wie Cholestyramin, welche bei jeder Art von Clostridien Infektionen die antimikrobielle Therapie unterstützen sollen. Es sollte jedoch nicht gleichzeitig mit dem Antibiotikum verabreicht werden, sondern 2 bis 3 Stunden früher oder später, da sonst auch die Antibiotika gebunden und wirkungslos ausgeschieden werden. (Maroo and Lamont 2006)

Bei häufig rezidivierenden oder therapierefraktären CDAD kann auch die Gabe von Immunglobulinen in Erwägung gezogen werden. Diese Therapie kommt nicht als Therapie der ersten Wahl, sondern aufgrund der geringen Fallzahlen nur als optionale Therapiemöglichkeit bei schweren oder rekurrierenden Clostridien Infektionen zum Einsatz. Bei den Immunglobulinen handelt es sich hauptsächlich um Gammaglobulinpräparate mit IgG Antitoxin A. (McPherson, Rees et al. 2006)

Zu den nichtantimikrobiellen alternativen Therapieoptionen zählt beispielsweise die Wiederherstellung der beschädigten intestinalen Standortflora mittels Spenderstuhl, der verflüssigt via Endoskop in das Colon transferiert wird. Diese Therapieoption gilt als Ultima Ratio und kommt in erster Linie bei rezidivierenden oder sehr hartnäckigen Clostridien Infektionen zum Einsatz.

1.7.5 Prophylaktische Maßnahmen

Um Patienten mit *C. difficile* Infektionen frühzeitig zu identifizieren und das Übertragungsrisiko für andere Patienten möglichst gering zu halten, sollten alle Patienten, die im Laufe eines Krankenhausaufenthaltes Durchfall entwickeln, auf eine Infektion mit *C. difficile* untersucht werden. In der Folge sollten Patienten mit einer symptomatischen Clostridien Infektion isoliert werden, was aus logistischen Gründen nicht immer möglich ist. Um im Rahmen von epidemischen Ausbrüchen Patienten mit einer *C. difficile* Kolonisation zu identifizieren, besteht die Möglichkeit mittels Stuhlkulturen ein Screening Verfahren durchzuführen. Wenn im Laufe eines solchen Screening Verfahrens Clostridien

Träger identifiziert werden, können diese antimikrobiell therapiert werden, um den Ausbruch einer Infektion zu verhindern. Es gibt jedoch keinen wissenschaftlichen Beleg, dass eine antimikrobielle Therapie eine Dekolonisation erzielen kann. (Johnson, Clabots et al. 1990) Es stellt sich die Frage ob Stuhluntersuchungen bei asymptomatischen Patienten sinnvoll beziehungsweise aus organisatorischen Gründen durchführbar sind. Symptomatische Patienten mit massiven Durchfällen sollten im Idealfall isoliert werden, da diese massiv Keime und Sporen an die Umgebung ausscheiden. Beim Auftreten von *C. difficile* assoziierten Erkrankungen bei mehreren Patienten einer Station bzw. im Rahmen epidemischer Ausbrüche können bakterielle Umgebungsuntersuchungen in Erwägung gezogen werden. Untersuchungen von unbelebten Oberflächen auf *C. difficile* Sporen könnten richtungweisend für bestimmte Reinigungs- und Desinfektionsverfahren sein. Eine der wichtigsten Maßnahmen, um das Ausbreiten von Clostridien Infektionen zu verhindern, sind gründliche Hygienemaßnahmen. Vor allem auf die Händehygiene des Personals sollte ein großes Augenmerk gelegt werden. Um eine Dekontamination zu erreichen, ist ein alleiniges Desinfizieren der Hände nicht ausreichend. Um auch die resistenten Clostridien Sporen abtöten zu können, ist initial ein gründliches Händewaschen und eine anschließende Händedesinfektion erforderlich.

1.8 Epidemiologie

Untersuchungen zeigten, dass die Inzidenz von *C. difficile* Infektionen, sowie deren Schweregrad, Rezidivrate und Letalität in den letzten Jahren deutlich gestiegen ist. (Pepin, Valiquette et al. 2004; McDonald, Owings et al. 2006)

In Europäischen Krankenhäusern zählen Clostridien Infektionen mittlerweile zu den häufigsten nosokomialen Infektionen, und treten mittlerweile bereits häufiger auf als Infektionen mit *Methicillin resistentem Staphylokokkus aureus* (MRSA). (Smith 2005)

In den USA ergab eine vom National Center for Health Statistics durchgeführte Analyse, dass sich die Inzidenz von *C. difficile* assoziierten Erkrankungen in den Jahren von 1996 bis 2003 verdoppelt hat. (McDonald, Owings et al. 2006) Auch ein Ansteigen der *C. difficile* Infektionen die außerhalb von Gesundheitseinrichtungen erworben wurden, konnte in den letzten Jahren verzeichnet werden. (Dial, Delaney et al. 2005)

Die Inzidenz von CDAD beläuft sich auf 0 bis 15 Fälle von 100 Patienten in Gesundheitseinrichtungen. Im Rahmen von epidemischen Ausbrüchen kann diese Zahl auf 16 bis 20 Fälle pro 100 Patienten ansteigen. Die Inzidenz von *C. difficile* Infektionen in Krankheitseinrichtungen ist in erster Linie abhängig vom Patientenkollektiv und von der Verwendung antimikrobieller Substanzen. Die Prävalenz von CDAD außerhalb von Gesundheitseinrichtungen ist wesentlich niedriger und beläuft sich auf 7 bis 12 Fälle pro 100 000. (McFarland, Beneda et al. 2007) Bei den Angaben der Inzidenz von CDAD finden sich große Diskrepanzen in den vorhandenen Daten. Die Europäische *C. difficile* Arbeitsgruppe schätzt die mittlere Inzidenz von *C. difficile* assoziierten Erkrankungen auf 1,1 Fälle pro 1000 Patienten. Diese Zahl wurde im Rahmen einer Europäischen Inzidenz Erhebung aus dem Jahre 2002 an 212 Krankenhäusern in 8 europäischen Ländern festgelegt, wobei Österreich an dieser Erhebung nicht teilnahm. (Barbut, Delmee et al. 2003)

1.8.1 Nosokomiale CDAD

C. difficile assoziierte Erkrankungen treten vor allem in Gesundheitseinrichtungen auf. Die Diagnose einer nosokomialen CDAD wird gestellt, wenn ein Patient 48 bis 72 Stunden nach stationärer Aufnahme oder Besuch einer Gesundheitseinrichtung Durchfall entwickelt und einen positiven Toxintest aufweist. Bei Durchfall, einem positiven Toxinnachweis innerhalb von 72 Stunden und einem rezenten Krankenhausaufenthalt in den letzten ein bis drei Monaten spricht man ebenfalls von einer nosokomial erworbenen CDAD. (McFarland, Mulligan et al. 1989)

1.8.2 Community-acquired CDAD

Bei Durchfall, einem positiven Toxintest nach 48 Stunden und keiner Vorgeschichte bezüglich vorangegangener Aufenthalte in Gesundheitseinrichtungen handelt es sich zumeist um eine CDAD, die außerhalb vom Krankenhaus erworben wurde. In der englischsprachigen Literatur spricht man von einer „community-acquired CDAD“. Die Differenzierung, ob der Patient den Keim im Krankenhaus erworben hat oder bereits zuvor kolonisiert war, ist schwierig. Patienten, die einer stationären Aufnahme bedürfen und

keinerlei Symptome einer CDAD aufweisen, werden üblicherweise keinem Screening Verfahren unterzogen und auf Vorhandensein von Clostridien im Stuhl getestet.

In einer Studie von McFarland et al. wurden stationäre Patienten mit Clostridien Infektionen unmittelbar nach ihrer stationären Aufnahme untersucht. 74% dieser Patienten wurden erst innerhalb der Gesundheitseinrichtung infiziert, 20% waren bereits bei Aufnahme infiziert und waren innerhalb der letzten 3 Monate bereits in einer Gesundheitseinrichtung stationär. Lediglich 5 % der untersuchten Patienten wurden nicht in einer Gesundheitseinrichtung infiziert, hatten also eine „community-acquired CDAD“. (McFarland, Mulligan et al. 1989)

1.8.3 Asymptomatische Träger von *Clostridium difficile*

Patienten, die mit *C. difficile* kolonisiert sind, jedoch keine Symptome zeigen, können in Gesundheitseinrichtungen eine wichtige Rolle als Überträger auf andere Patienten spielen. Die Übertragung der Sporen erfolgt entweder direkt von Mensch zu Mensch, über die Kontamination der Umgebung oder über die Hände des Krankenhauspersonals.

Diese asymptomatischen Träger nehmen die Keime oder deren Sporen außerhalb von Gesundheitseinrichtungen auf. Infektionsquellen sind beispielsweise Haustiere wie Katzen Hunde oder Pferde, Nutztiere wie Rinder oder Schweine oder Personen im gleichen Haushalt, die an Durchfällen, die durch *C. difficile* hervorgerufen wurden, leiden. Auch im Boden und im Schmutz finden sich Clostridien Sporen, die dort lange Zeit überleben können.

Die Rate der asymptomatisch mit *C. difficile* kolonisierten Patienten in der amerikanischen und europäischen Bevölkerung wird mit 0 bis 3% angenommen. (Djuretic, Wall et al. 1999; Samore 1999; Bartlett 2002) Diese asymptomatischen Träger sind jedoch sehr wohl in der Lage den Keim auf fäkooralem Weg auf andere gesunde Erwachsene zu übertragen.

In einer Arbeit von Kato et al. im Jahre 2000 wurden 1234 gesunde Erwachsene, die in den letzten 4 Wochen vor Beginn der Studie nicht antibiotisch behandelt wurden, auf die Kolonisation mit *C. difficile* hin untersucht. Die Kolonisationsrate in diesem Patientenkollektiv schwankte in den einzelnen untersuchten Gruppen zwischen 4,2% und 15,3%. (Kato, Kita et al. 2001)

Im Jahre 2004 wurden in einer Studie von Ozaki et al. 139 gesunde Erwachsene auf das Vorhandensein von *C. difficile* untersucht. Ausgewählt wurden Probanden, die weder an Durchfall litten, noch in den letzten 4 Wochen eine antimikrobielle Therapie erhalten hatten. Auch hier betrug die Kolonisationsrate zwischen 2,4% und 13%, wobei nicht zwischen toxinproduzierenden und nicht-toxinproduzierenden Stämmen unterschieden wurde. (Ozaki, Kato et al. 2004)

Es ist anzunehmen, dass Patienten, die asymptomatisch mit *C. difficile* kolonisiert sind, ein geringeres Risiko haben, eine CDAD zu entwickeln. Die Mechanismen für die protektive Wirkung der asymptomatischen Kolonisation mit *C. difficile* sind unklar. (Shim, Johnson et al. 1998)

Der klinische Verlauf einer Infektion mit *C. difficile* steht in engem Zusammenhang mit der individuellen Immunantwort. Bei asymptomatischen Trägern finden sich höhere Serum Spiegel von IgG Antikörpern gegen das Toxin A als bei Patienten, die Symptome einer CDAD zeigen. Auch bei Patienten mit milden Symptomen finden sich höhere Serum IgG Spiegel gegen das Toxin A als bei Patienten mit schweren Krankheitsverläufen. (Kyne, Warny et al. 2000)

1.8.3.1 Asymptomatische Träger von *C. difficile* in Gesundheitseinrichtungen

Bei hospitalisierten Patienten werden Kolonisationsraten von 15 bis 21 % (McFarland, Mulligan et al. 1989; McFarland 1995) angenommen. In diversen Arbeiten finden sich auch Kolonisationsraten von 20 bis 30% (Johnson and Gerding 1998) bei hospitalisierten Patienten. Die höhere Kolonisationsrate bei Krankenhauspatienten kommt durch die Kontamination der Umgebung zustande. Bei Patienten im Krankenhaus, die bereits mit *C. difficile* kolonisiert sind, kommt es nur in seltenen Fällen zum Krankheitsausbruch. Diese asymptomatischen Träger stellen jedoch ein Problem dar, da sie die Keime, beziehungsweise Sporen sehr wohl ausscheiden. Durch die Kontamination der Umgebung kann es wiederum zur Übertragung der krankmachenden Keime auf andere Patienten kommen.

1.9 Ribotyp O27 Epidemie

Vor allem das Auftreten eines neuen hochvirulenten Stammes, der in Kanada, in den USA, in Japan und in einigen europäischen Ländern zu schweren Krankheitsausbrüchen geführt hat, hat zu einem verstärkten Interesse an *C. difficile* geführt. (McEllistrem, Carman et al. 2005; McDonald, Owings et al. 2006; Kato, Ito et al. 2007; Kuijper, Coignard et al. 2007) Der sogenannte Ribotyp O27 zeigt eine verstärkte Toxinproduktion, ein vermindertes Ansprechen auf die üblichen Therapiemöglichkeiten und geht mit schweren Krankheitsverläufen und deutlich erhöhter Mortalität im Gegensatz zu anderen Clostridienstämmen einher. Weitere Bezeichnungen für den vereinfacht als PCR Ribotyp O27 bezeichneten Clostridienstamm sind Toxinotyp III, Nord-Amerikanischer Pulsfeld-Gelelektrophorese (PFGE)-Typ 1 (NAP1) und Restriktionsendonuklease Gruppe-Typ BI (REA Gruppe BI).

Der Ribotyp O27 weist einen Genlocus für die Produktion des binären Toxins sowie eine 18-bp-Deletion im Regulatorgen *tcdC* auf, welches für die Regulation der Toxinproduktion verantwortlich ist. Daraus resultiert eine vermehrte Produktion der Toxine A und B. Dieser Stamm ist resistent gegen Fluorochinolone und zeigt ein vermindertes Ansprechen auf Metronidazol, die Standardtherapie bei *C. difficile* Infektionen. Der Stamm BI/NAP1/O27 wurde zwar bereits 1984 zum ersten Mal isoliert, konnte aber äußerst selten bei Patienten nachgewiesen werden und war zum damaligen Zeitpunkt nicht resistent gegen Fluorochinolone. (McFarland 2008)

In den USA und in Kanada ist die Häufigkeit von nosokomialen CDAD Ausbrüchen seit 2003 deutlich angestiegen. Diese Ausbrüche konnten weitgehend mit Ribotyp O27 in Verbindung gebracht werden. (Pepin, Valiquette et al. 2004; Pepin, Saheb et al. 2005; Pepin, Routhier et al. 2006)

In einer Studie von McDonald et al. wurden 187 Isolate von *C. difficile* von Patienten aus 8 verschiedenen Gesundheitseinrichtungen in mehreren Bundesstaaten der USA während epidemischen Ausbrüchen gewonnen und mittels PFGE und REA untersucht. In allen 8 Gesundheitseinrichtungen konnte der neue hochvirulente Stamm nachgewiesen werden. In fünf Gesundheitseinrichtungen handelte es sich sogar bei annähernd der Hälfte der Proben um den Ribotyp O27. (McDonald, Killgore et al. 2005)

Im kanadischen Quebec kam es zum fünffachen Anstieg der Inzidenz von *C. difficile* Infektionen, der ebenfalls auf diesen neuen hochvirulenten Stamm zurückgeführt werden konnten. (Pepin, Routhier et al. 2006)

Auch in Europa stieg die CDAD Inzidenz in den letzten Jahren deutlich an. Das „Communicable Disease Surveillance Centre“ in England verzeichnete einen Anstieg der CDAD Fälle von 1000 auf 15.000 in den Jahren von 1990 und 2000 und auf 35.500 in den Jahren von 2001 bis 2003. Ab dem Jahre 2004 konnte auch ein Anstieg der Infektionen mit dem Ribotyp O27 verzeichnet werden. Im Rahmen dieser Epidemie kam es zu schweren Krankheitsfällen mit zum Teil tödlichem Ausgang. (Smith 2005)

Der erste Nachweis von *C. difficile* Ribotyp O27 in Deutschland wurde im Jahre 2007 erbracht. In 6 Krankenhäusern der Region Trier konnten 28 wahrscheinliche und 8 bestätigte Infektionen mit dem hochvirulenten Stamm nachgewiesen werden. Es kam zum Auftreten schwer verlaufender CDAD Fälle. Bei 6 Patienten kam es zu Komplikationen mit tödlichem Ausgang. Im Rahmen der mikrobiologischen Untersuchungen des Clostridien Stammes konnte mittels PCR das Gen für das binäre Toxin und die 18-bp-Deletion im tcdC Gen nachgewiesen werden. Weiters zeigte der Stamm Resistenzen gegenüber Erythromycin und Moxifloxacin. In der Folge wurden ca. 900 Stämme, die zwischen Jänner 2000 und September 2006 im Konsiliarlaboratorium für gastrointestinale Infektionen in Freiburg analysiert, wobei im Rahmen dieser Untersuchung kein Ribotyp O27 nachgewiesen werden konnte. Es ist jedoch anzunehmen, dass der hochvirulente Stamm zumindest in der Region Trier bereits endemisch vorkommt. (RKI 2007)

In Österreich gibt es bislang einen publizierten Fall aus dem Jahre 2006 über eine Infektion mit diesem Stamm. Hierbei handelte es sich um eine 69-jährige Touristin aus Großbritannien mit Erbrechen, Unterbauchschmerzen und wässrigem Durchfall, die sich jedoch höchstwahrscheinlich noch in ihrem Heimatland mit dem hochvirulenten Keim angesteckt hat, nachdem sie dort wegen eines Atemwegsinfektes mit Antibiotika behandelt wurde. Initial wurde aufgrund der Symptomatik eine Therapie mit Ciprofloxacin begonnen. Da es zu keiner Besserung der Symptome kam und eine Computertomographie ödematöse Verdickungen der Darmwand sowie freie Flüssigkeit im Bauchraum zeigte, wurde eine Stuhlprobe untersucht und eine empirische Therapie mit Metronidazol begonnen. Anhand der untersuchten Stuhlprobe konnte *C. difficile* als Erreger festgemacht

werden. Da es trotz der Therapie mit Metronidazol zu keiner wesentlichen Besserung kam, wurde die Therapie auf Vancomycin umgestellt. (Indra, Huhulescu et al. 2006) Inzwischen wurde bekannt, dass bereits weitere Fälle sowie eine lokale Ribotyp O27 Epidemie in Österreich aufgetreten sind (personnel communications; AGES).

Der Anstieg von *C. difficile* Infektionen stellt eine immense Mehrbelastung für das Gesundheitssystem dar. Einerseits kommt es zu einem Mehraufwand für das Personal, da im Patienten mit einer symptomatischen Clostridien Infektion im Idealfall isoliert werden sollen, was aus logistischen Gründen nicht immer möglich ist. Weiters muss auf spezielle Hygienemaßnahmen geachtet werden um die Übertragung auf andere Patienten und die Krankenhausumgebung möglichst gering zu halten.

2 Material und Methoden

2.1 Epidemiologie an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz

Um den Verlauf der Inzidenz von *C. difficile* Infektionen zu verfolgen, wurden Daten von den jeweiligen Instituten erhoben, an die in den Jahren 2000 bis 2008 Stuhlproben zur Testung auf *C. difficile* von der Universitätsklinik für Innere Medizin versandt wurden. Die Institute die zu diesem Zweck kontaktiert wurden, waren das Institut für Hygiene, Mikrobiologie und Umweltmedizin der Medizinischen Universität Graz, das Institut für Krankenhaushygiene und Mikrobiologie am LKH Graz, das mikrobiologische Labor der Universitätsklinik für Innere Medizin und das Institut für medizinische Mikrobiologie und Hygiene der AGES (österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH) in Graz. Erhoben wurden die Anzahl der insgesamt eingesandten Proben die auf das Vorliegen von *C. difficile* untersucht worden waren, sowie die Anzahl der positiv getesteten Proben. Eine Stuhlprobe wurde als positiv gewertet, wenn entweder Clostridien Toxine nachgewiesen werden konnten oder *C. difficile* in speziellen Stuhlkulturen angezüchtet werden konnte.

Um die Frage zu beantworten, wie oft die Diagnose „CDAD“ im Vergleich zu den positiv getesteten Proben Eingang in die Entlassungsdiagnosen der Patienten fand wurden die zwischen 2004 und 2008 im MEDOCS erfassten ICD-10 Diagnosen der Universitätsklinik für Innere Medizin, die zur Klassifikation von *C. difficile* assoziierten Erkrankungen dienen, „A04.7: Enterokolitis durch *C. difficile*“ und „B96.8 Sonstige näher bezeichnete Bakterien als Ursache von Krankheiten, die in anderen Kapiteln klassifiziert sind bzw. *Clostridium difficile* als Erreger“ zur Veranschaulichung der Entwicklung über die Jahre herangezogen. Die Anzahl der positiv getesteten Patienten wurde mit der Anzahl der im MEDOCS erfassten ICD-10 Diagnosen verglichen. Weiters wurde erhoben, wie viele Patienten sich in den Jahren 2003 bis 2008 in stationärer Behandlung an der Universitätsklinik für Innere Medizin befanden. Diese Daten wurden im Microsoft Excel aufgelistet und anhand von Diagrammen graphisch dargestellt.

2.2 Asymptomatische Träger bei Patienten an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz

2.2.1 Patientenpopulation

Um den *C. difficile* Trägerstatus bei asymptomatischen Patienten zu ermitteln, wurden 214 Stuhlproben untersucht. Diese Stuhlproben wurden in der Zeit von Oktober bis Dezember 2008 von 214 verschiedenen Patienten der Universitätsklinik für Innere Medizin gewonnen. Untersucht wurden stationäre Patienten der Abteilungen für Gastroenterologie, Nephrologie, Endokrinologie, Rheumatologie, Kardiologie, Pulmonologie und Angiologie.

Das Einschlusskriterium für das Patientenkollektiv war eine Mindestaufenthaltsdauer von 7 Tagen auf den jeweiligen Stationen. Patienten mit Diarrhoe, sowie Patienten mit einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung oder einer laufenden Zytostatikatherapie wurden aus der Untersuchung ausgeschlossen. Die Daten, die im Vorfeld erhoben wurden, waren Name, Alter und Geschlecht der Patienten, der Grund für die stationäre Aufnahme, Grunderkrankungen, die Einnahme von Protonenpumpeninhibitoren oder Antibiotika, die Dauer des stationären Aufenthalts und der Tag der Probenentnahme.

Nach Aufklärung der Patienten wurden Stuhlgefäße ausgehändigt und die Patienten über deren Verwendung unterrichtet. Diese Datenerhebung wurde durch ein Votum der lokalen Ethikkommission genehmigt. Zur Identifikation der Proben wurden diese im Vorhinein mit den Patientendaten beschriftet und ein Anforderungsformular für die Untersuchung im mikrobiologischen Labor der medizinischen Universitätsklinik beigelegt.



Abbildung 9: Die an die Patienten ausgeteilten Stuhlgefäße und die ausgefüllten Mikrobiologieformulare

2.2.2 Mikrobiologische Untersuchungen

Die Stuhlgefäße wurden ehestmöglich nach Gewinnung im mikrobiologischen Labor der medizinischen Universitätsklinik untersucht, um eine Denaturierung der Toxine zu verhindern. Bei Verzögerung der Testung wurden die Stuhlproben gekühlt bis zu maximal zwei Tagen aufbewahrt.



Abbildung 10: Stuhlgefäß

Für den Nachweis von *C. difficile* in den Stuhlproben kamen ein Toxinschnelltest, ImmunoCard[®] Toxins A & B der Firma Meridian Bioscience (Ohio, USA), sowie *C. difficile* Kulturmedien der Firma Becton Dickinson GmbH (Heidelberg, Deutschland) und ein Agglutinationstest der Firma Microgen Bioproducts (Camberley, UK) zum Einsatz.

2.2.3 Toxinschnelltest

Mithilfe des Toxinschnelltests, eines Enzym-Immunoassays, wurden die Stuhlproben auf die Toxine A und B untersucht. Dieser Schnelltest ermöglichte eine schnelle und einfache Bestätigung einer etwaigen Clostridien Infektion.

Die Vorgehensweise bei Verwendung des Toxinschnelltests ImmunoCard[®] Toxins A & B wird im folgenden Absatz anhand der Packungsbeilage der Firma Meridian Bioscience (Ohio, USA) beschrieben:

Der ImmunoCard[®] Toxins A & B Testkit, welcher bei 2 bis 6 °C aufbewahrt werden soll, wird vor Durchführung des Tests etwa 60 Minuten auf Raumtemperatur erwärmt.

Die Testkarten des ImmunoCard[®] Toxins A & B Testkits bestehen aus einem Membrankissen umgeben von einem Kunststoffrahmen, mit jeweils vier Ausnehmungen, zwei Probefelder und zwei Reaktionsfelder. Bevor die Stuhlprobe in die Probefelder kommt, wird sie fünf Minuten lang mit einem Probendiluent, einer Proteinlösung mit Gentamicin und Thiomersal als Konservierungsmittel, und dem Enzymkonjugat, welches aus Antikörpern gegen die Toxine A und B besteht, in einem Teströhrchen inkubiert. Von flüssigen beziehungsweise halbfesten Stühlen werden 25 µl mithilfe einer im Testkit enthaltenen Pipette dem Gemisch aus Probediluent und Enzymkonjugat hinzugefügt, von geformten festen Stühlen nimmt man ein etwa 2 mm großes Stück mit einem Applikatorstäbchen und transferiert es in das Proberöhrchen. Anschließend werden 150 µl dieses Gemischs auf die Probefelder aufgetragen und abermals 5 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Während dieser Inkubationsphase kommt es zur Aufspaltung der festen und flüssigen Anteile des Toxin-Konjugat Gemisches, wobei die flüssigen Anteile der Probe über die Membran zu den Reaktionsfeldern fließt. Eines der beiden Reaktionsfelder dient als Testfeld, das andere als Kontrollfeld. Im Testfeld befinden sich immobilisierte monoklonale Anti-Toxin-A-Antikörper und polyklonale Anti-Toxin-B-Antikörper, welche die Toxin-Konjugatkomplexe an der Reaktionsmembran binden. Nach

der zweiten Inkubationsphase werden die beiden Reaktionsfelder mit einem Waschreagens gespült, um eine etwaige Beeinflussung des Ergebnisses durch Proteinkontaminierung zu reduzieren. Nachdem die Waschlösung aufgesogen worden ist, werden drei Tropfen von einem Substratreagens, einer gepufferten Lösung mit Tetramethylbenzidin und Peroxid, hinzugefügt und die Testkarten abermals fünf Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Das Ergebnis wird anschließend visuell abgelesen. Bei einem positiven Ergebnis kommt es zu einer Blaufärbung des Testfelds. Das Kontrollfeld färbt sich bei korrekter Durchführung des Schnelltests immer blau an. (siehe Abbildung 11) Bleibt der Farbumschlag im Kontrollfeld aus, muss der Test wiederholt werden. Weiters muss beachtet werden, dass der Farbumschlag im Testfeld wesentlich geringer sein kann als im Kontrollfeld und die Intensität des Farbumschlags keine Auskunft über die Toxinmenge gibt. Ein Ausbleiben des Farbumschlags im Testfeld bedeutet entweder, dass keine *C. difficile* Toxine vorliegen oder die Toxinmenge unter der Nachweisgrenze des Testkits liegt. Die Nachweisgrenze für die Toxine liegt bei 3ng Toxin A und 3ng Toxin B pro ml Stuhl.

Bei ImmunoCard[®] Toxins A & B handelt es sich um ein Testverfahren mit einer klinischen Sensitivität von 93,1% und einer klinischen Spezifität von 98,9% bei prospektiven Proben sowie einer Sensitivität von 100% und einer Spezifität von 98,4% bei retrospektiven Proben im Vergleich mit einem standardmäßigen Zell-Zytotoxizitäts-Assay. Diese Leistungsmerkmale wurden in vergleichenden Studien von drei unabhängigen Labors erhoben. Die Reproduzierbarkeit des ImmunoCard[®] Toxins A & B Tests wurde mit bekannten negativen und positiven Proben an drei aufeinanderfolgenden Tagen in drei verschiedenen Labors getestet und liegt bei 100%. (Quelle: Beipacktext ImmunoCard[®] Toxins A & B)

Bei bestimmten *Clostridium sordellii* Isolaten kann es aufgrund der Ähnlichkeit der Toxine zu falsch positiven Testergebnissen kommen. (Lyerly, Krivan et al. 1988) Das ImmunoCard[®] Toxins A & B Testkit bestätigt zwar das Vorliegen der beiden von *C. difficile* produzierten Toxine A und B, dient aber nicht dazu, quantitative Aussagen zu treffen. Die Intensität des Farbumschlags steht in keinem Verhältnis zur Toxinkonzentration. Weiters lässt die Intensität der Blaufärbung im Testfeld keine Rückschlüsse auf das Vorliegen einer *C. difficile* assoziierten Erkrankung beziehungsweise die Schwere der Symptome zu. Ein positives Testergebnis dient lediglich als Unterstützung bei der Diagnostik und Therapie einer CDAD.



Abbildung 11: Ablauf des Toxinschnelltests. Das erste Bild zeigt die noch unbefüllten Probefelder, das zweite zeigt die bereits in den Testfeldern befindlichen Stuhlsuspensionen und das dritte Bild zeigt einen Farbumschlag im Kontrollfeld, nicht aber im Testfeld, was einem negativen Testergebnis entspricht. Bei einem positiven Ergebnis kam es zu einem Farbumschlag in beiden Feldern.

2.2.4 Stuhlkultur

Weiters wurden Kulturen für *C. difficile* von den Stuhlproben durchgeführt. Dazu wurde der Stuhl zuvor etwa 10 Minuten mit 70%igem Alkohol in Verbindung gebracht um die Überwucherung der Kulturplatten mit Keimen der physiologischen Darmflora zu verhindern. Die Behandlung mit Alkohol oder alternativ Hitze vor Aufbringen der Proben auf die Kulturmedien führt dazu, dass lediglich die aus dieser Behandlung resistenten Clostridien Sporen übrig bleiben. Verwendet wurden BD BBL Stacker Plates[®] (Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Deutschland), Petrischalen mit einem speziellen FertigmEDIUM mit 7% Schafblut. Nach Inkubation der Stuhlproben mit hochprozentigem Alkohol wurden diese mit Wattetupfern auf den *C. difficile* Agarplatten mäanderförmig ausgestrichen und bei 37°C unter anaeroben Bedingungen für mindestens 48 Stunden im Brutkasten inkubiert, um ein makroskopisch gut beurteilbares Ergebnis zu erhalten. Um anaerobe Bedingungen herzustellen wurden GENbag[®] Gasgeneratoren (bioMérieux[®], Lyon, Frankreich) verwendet. Dieses System besteht aus einem luftdichten durchsichtigen Plastikbeutel, Verschlussleisten und einem Generator aus Aktivkohle, Natriumascorbat und weiteren organischen und anorganischen Bestandteilen. Die Generatoren regulieren die entstehende Gaskonzentration und schaffen so die idealen Bedingungen für das Anwachsen von anaeroben Bakterien.

Nach mindestens 48stündiger Inkubation im Brutschrank wurden die auf den Medien mittlerweile angewachsenen Kolonien primär makroskopisch beurteilt. *C. difficile* Kolonien haben einen Durchmesser von 2 bis 4 mm und imponieren gräulich gelblich mit

einem durchsichtigen Saum und unregelmäßiger Begrenzung. (siehe Abbildung 1) Ein weiteres Charakteristikum ist der typisch stechende Geruch.

Zur Identifikation der auf den Agarplatten angezüchteten Kolonien wurde M41 Microscreen[®] *C. difficile*, ein Latexagglutinationstest der Firma Microgen Bioproducts verwendet. Das Testprinzip beruht auf Latexpartikeln die mit Kaninchen IgG Antikörpern beschichtet sind. Diese Antikörper sind spezifisch für *C. difficile* Zellwandantigene. Zum Bestätigung einer Clostridien Kultur werden die auf den Platten angezüchteten Kolonien in isotoner Kochsalzlösung gelöst und mit den beschichteten Latexpartikeln in Form einer milchigen Flüssigkeit in Verbindung gebracht. Bei Vorliegen von *C. difficile* Kolonien kommt es zu einer Immunreaktion, die zu einer Agglutination führt. Makroskopisch ist nach spätestens 2 Minuten ein fein granuläres Ausflocken der Lösung zu erkennen. Die Sensitivität, Spezifität und diagnostische Effizienz dieses Testverfahrens betragen jeweils 100% im Vergleich zu einem bewährten kommerziell erhältlichen Test. Allerdings gibt es eine Reihe anderer Organismen (andere *Clostridium spp.*) die zu falsch positiven Testergebnissen führen können. (Die Leistungsdaten von M41 Microscreen[®] *C. difficile* wurden in einem Kulturbestätigungstest intern als auch in einem unabhängigen Mikrobiologielabor in Großbritannien erhoben.)

Die auf den Kulturmedien angewachsenen Kolonien wurden wiederum einem Toxin Schnelltest unterzogen um eine Differenzierung zwischen toxinproduzierenden und nicht toxinproduzierenden Clostridienstämmen durchzuführen. Zu diesem Zweck kam wiederum der ImmunoCard[®] Toxins A & B Testkit der Firma Meridian Bioscience zum Einsatz. Diesmal wurden anstelle des flüssigen oder verdünnten Stuhls Abstriche der Kolonien den Reagenzien hinzugefügt.

Wenn die Identifikation der angewachsenen Kolonien anhand der bisher genannten Methoden nicht eindeutig möglich war, wurde in Einzelfällen ein api[®] 20 A, ein System zur Identifizierung bestimmter Keime der Firma bioMérieux[®], verwendet. Bei dieser Methode wird eine Suspension mit dem zu bestimmenden Keim auf einen Streifen, der aus mehreren Röhrchen besteht, aufgebracht. In den einzelnen Röhrchen befinden sich Metaboliten, deren Verstoffwechslung durch den Keim zu Farbumschlägen führt, die dann anhand einer Software die Identifikation des Keims ermöglichen.

In Einzelfällen wurden die angewachsenen Kolonien einer Gramfärbung unterzogen und unter dem Mikroskop untersucht. Es zeigten sich grampositive bis gramvariable Stäbchen, vereinzelt mit Sporen an den Enden.

Bei unsicheren Ergebnissen wurden die einzelnen Testverfahren wiederholt. Die Daten die letztendlich erhoben wurden waren die Ergebnisse des Toxinschnelltests, der *C. difficile* Kultur und der Toxintests aus der Kultur. Bei den Patienten, bei denen ein positiver Toxintest oder eine positive Kultur nachgewiesen werden konnte, wurde zusätzlich die Art des Antibiotikums, die Dauer des stationären Aufenthalts und der Tag der Probengewinnung ermittelt.

2.2.5 Datenauswertung

Die gewonnenen Daten wurden in Microsoft Excel Tabellen aufgelistet und zum Teil mit SPSS statistisch ausgewertet. Zur Verwendung kamen in erster Linie Berechnungen der Mittelwerte und Standardabweichungen. Die statistische Auswertung und graphische Darstellung der erhobenen Daten wurde mit SPSS durchgeführt. Demographische Tabellen der Untersuchungspopulation wurden in Microsoft Word angefertigt.

2.2.6 Verwendete Produkte

M41 MICROSCREEN® C. DIFFICILE

Microgen Bioproducts Ltd
1, Admiralty Way
Camberley
Surrey, GU15 3DT, UK

ImmunoCard® Toxins A & B

Meridian Bioscience, Inc.
USA/Corporate Office
3471 River Hills Drive
Cincinnati, Ohio 45244

GENbag

bioMérieux® sa
au capital de 11 879 045 €
673 620 399 RCS LYON
69280 Marcy-l'Etoile / France

BD BBL Stacker Plates

***C. difficile* Agar mit 7% Schafblut**

Becton Dickinson GmbH
BD Diagnostics
Tullastraße 8-12
69126 Heidelberg / Germany

api® 20 A – System zur Identifizierung von Anaerobiern

bioMérieux® sa
au capital de 11 879 045 €
673 620 399 RCS LYON
69280 Marcy-l'Etoile / France

3 Ergebnisse – Resultate

3.1 Epidemiologie von *C. difficile* Infektionen an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz

Um etwaige *C. difficile* Infektionen nachzuweisen wurden in den Jahren 2000 bis 2008 insgesamt 10.311 Stuhlproben von Patienten der Universitätsklinik für Innere Medizin untersucht. Von den insgesamt eingesandten Proben wurden 643 entweder mittels Toxintest oder Stuhlkultur positiv auf das Vorhandensein von *C. difficile* getestet. Dies entspricht einem prozentuellen Anteil von 6%.

Anteil der für *C. difficile* positiv getesteten Proben 2000 - 2008

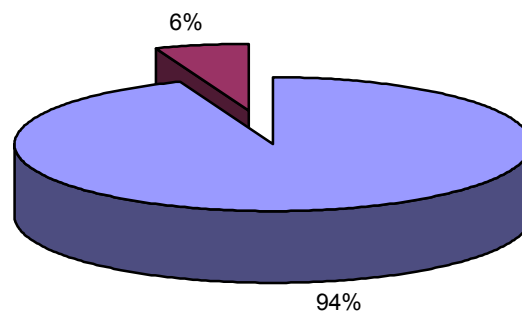


Abbildung 12: Prozentueller Anteil der positiv getesteten Proben (6%) im Verhältnis zu den insgesamt eingesandten Proben (n=10.311) von Patienten der Universitätsklinik für Innere Medizin in den Jahren 2000 bis 2008

Der Großteil der Stuhlproben, nämlich 9625, wurde im mikrobiologischen Labor der Universitätsklinik für Innere Medizin untersucht, 401 Proben wurden an das Institut für Hygiene, 266 an das mikrobiologische Labor der AGES und 19 an das Institut für Krankenhaushygiene versandt.

Institution	Anzahl der eingesandten Proben	Anzahl der positiv getesteten Proben
Mikrobiologisches Labor der Universitätsklinik für Innere Medizin	9625	604 (6,27%)
Institut für Hygiene	401	21 (5,24%)
AGES	266	16 (6,02%)
Institut für Krankenhaushygiene und Mikrobiologie	19	2 (10,53%)

Tabelle 5: Anzahl der insgesamt eingesandten Proben und der positiv getesteten Proben an den jeweiligen untersuchenden Institutionen (Prozentueller Anteil der positiv getesteten Proben anhand der insgesamt eingesandten Proben an die jeweiligen Institutionen)

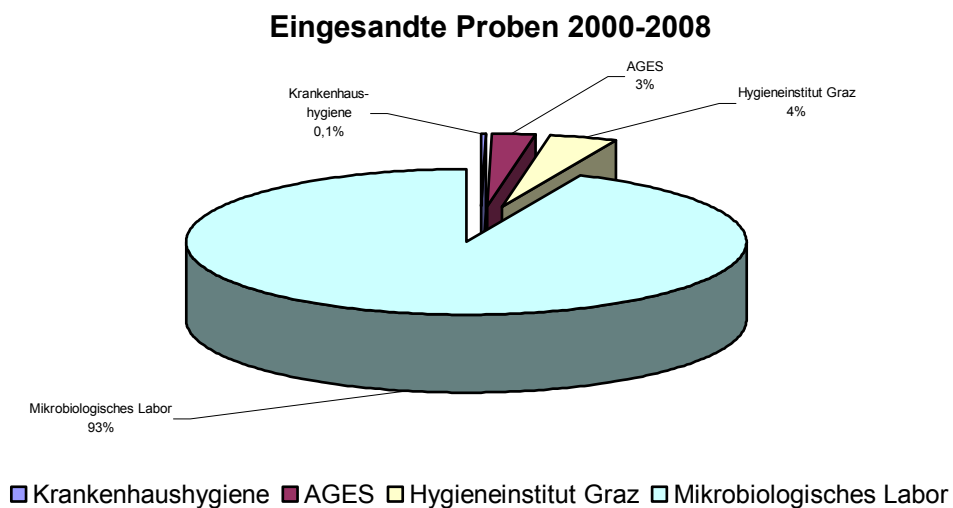


Abbildung 13: Prozentuelle Verteilung der an den jeweiligen Institutionen getesteten Proben

93% und somit der Großteil der insgesamt von der Universitätsklinik für Innere Medizin eingesandten Proben wurden im hauseigenen mikrobiologischen Labor untersucht. 4% der Proben wurden am Institut für Hygiene, Mikrobiologie und Umweltmedizin der Medizinischen Universitätsklinik, 3% im mikrobiologischen Labor der AGES (Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH) und weniger als 1% am Institut für Krankenhaushygiene und Mikrobiologie in Graz getestet. Anhand der Anzahl der eingesandten Proben, konnte ein Anstieg der versandten Proben über die Jahre beobachtet werden. So wurden beispielsweise im Jahre 2000 insgesamt 644 Proben

in den verschiedenen Labors auf das Vorhandensein von *C. difficile* getestet, während im Jahr 2008 bereits insgesamt 1860 Proben von der Universitätsklinik für Innere Medizin verschickt wurden. 1866, und somit die höchste Zahl an Proben, wurde im Jahre 2007 getestet. Die größte Anzahl an positiven Proben fand sich im Jahre 2008. In diesem Jahr konnte bei 111 eingesandten Proben *C. difficile* nachgewiesen werden, während im Jahre 2000 nur bei 30 Patienten *C. difficile* im Stuhl zu finden war.

Jahr	Eingesandte Proben	Positiv getestete Proben
2000	644	30 (4,7%)
2001	801	51 (6,4%)
2002	839	40 (4,8%)
2003	1034	84 (8,1%)
2004	1099	92 (8,4%)
2005	1006	72 (7,2%)
2006	1162	82 (7,1%)
2007	1866	81 (4,3%)
2008	1860	111 (5,9%)
Gesamt (2000-2008)	10311	643 (6,2%)
Ø Durchschnitt	1145 ± 437 (644-1866)	71 ± 26 (30-111)

Tabelle 6: Anzahl der insgesamt eingesandten und der positiv getesteten Proben pro Jahr, Gesamtzahl der über die Jahre eingesandten Proben, durchschnittliche Anzahl der pro Jahr eingesandten Proben sowie prozentueller Anteil der positiv getesteten an den insgesamt eingesandten Proben. In der letzten Zeile finden sich in Klammer jeweils die Mindestanzahl und die maximale Anzahl der insgesamt getesteten sowie der positiv getesteten Proben.

Sowohl bei der Anzahl der insgesamt eingesandten Proben sowie bei der Anzahl der positiv getesteten Proben zeigt sich ein deutlicher Anstieg von 2000 bis 2008. Der prozentuelle Anteil der positiv getesteten Proben an den insgesamt eingesandten Proben blieb über die Jahre weitgehend gleich beziehungsweise änderte sich nur wenig. Im Durchschnitt wurden 1145 ± 437 Proben pro Jahr eingesandt, wovon durchschnittlich 71 ± 26 Proben positiv waren. Der geringste Anteil an positiv getesteten Proben fand sich im Jahre 2000 und betrug 4,66% (30 von 644). Der höchste Anteil fand sich im Jahre 2004 und betrug 8,37% (92 von 1099). Durchschnittlich wurden pro Jahr etwa 6% der insgesamt eingesandten Proben positiv auf *C. difficile* getestet.

Positiv getestete Proben 2000 - 2008

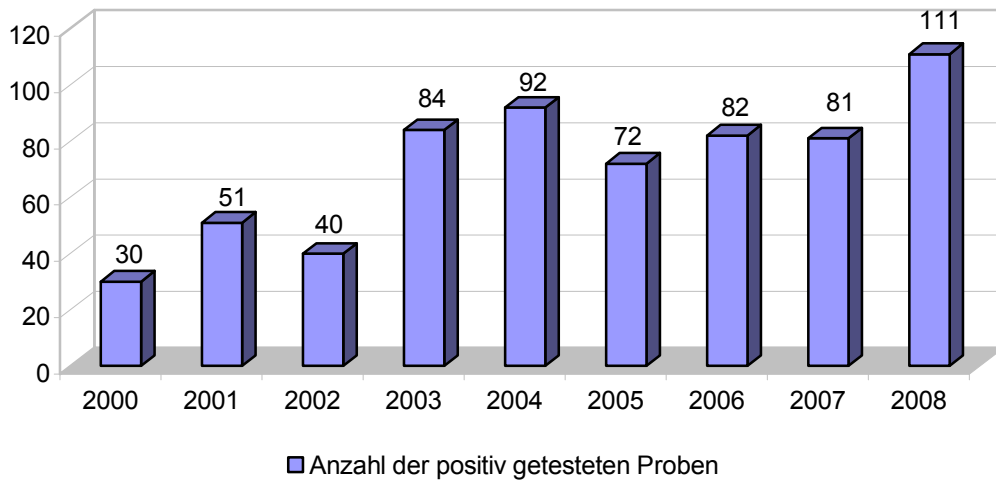


Abbildung 14: Anzahl der positiv auf *C. difficile* getesteten Proben pro Jahr. Durchschnittlich wurden 1145 ± 437 Proben pro Jahr zur Testung auf *C. difficile* verschickt. Die Zahl der insgesamt auf *C. difficile* getesteten Proben stieg von 2000 bis 2008 auf das Dreifache an.

Anteil der positiv getesteten Proben pro Jahr in %

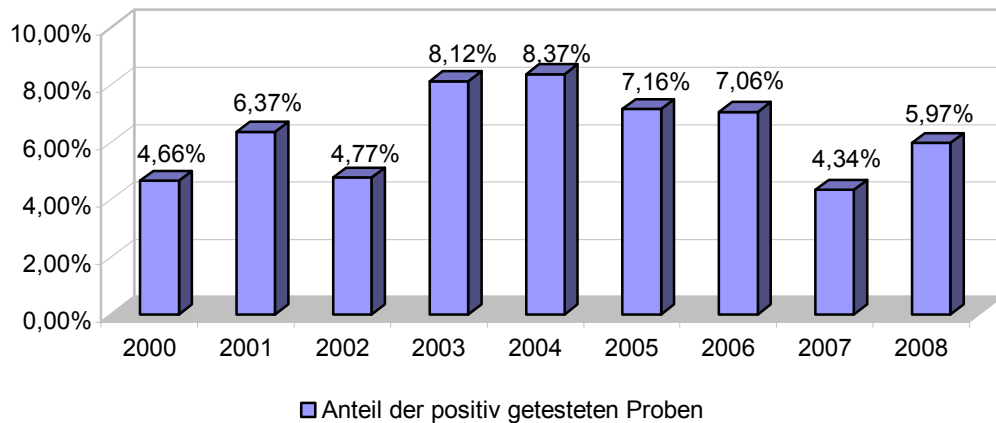


Abbildung 15: Prozentueller Anteil der positiv auf *C. difficile* getesteten Stuhlproben an den insgesamt auf *C. difficile* getesteten Proben pro Jahr. Im Durchschnitt wurden pro Jahr 6% der insgesamt eingesandten Proben positiv auf *C. difficile* getestet.

Eingesandte und positiv auf *C. difficile* getestete Proben 2000 - 2008

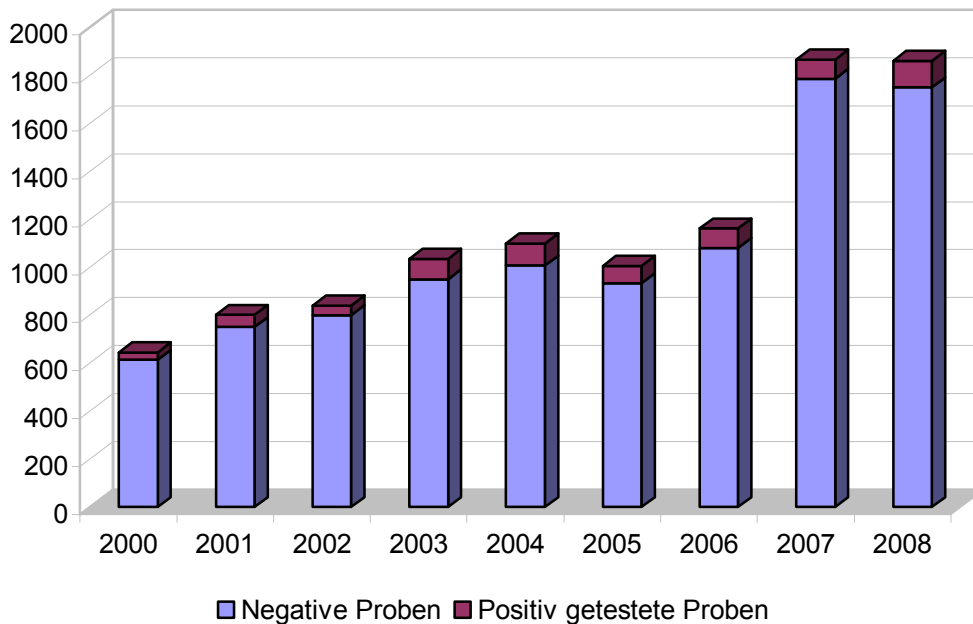


Abbildung 16: Anzahl der insgesamt eingesandten und Anteil der positiv getesteten Proben pro Jahr. Es zeigt sich, dass der relative Anteil der positiv getesteten Proben über die Jahre weitgehend konstant ist.

Die ICD-10 Diagnosen „A04.7: Enterokolitis durch *C. difficile*“ oder „B96.8 Sonstige näher bezeichnete Bakterien als Ursache von Krankheiten, die in anderen Kapiteln klassifiziert sind“, die zur Kodierung von Clostridien Infektionen oder CDAD im MEDOCS herangezogen werden, fanden sich in den Jahren 2004 bis 2008 bei insgesamt 212 Patienten. Somit wurde nur etwa die Hälfte der positiv auf *C. difficile* getesteten Patienten in diesen Jahren (n=438) mit der Diagnose „A04.7: Enterokolitis durch *C. difficile*“ oder „B96.8 Sonstige näher bezeichnete Bakterien als Ursache von Krankheiten, die in anderen Kapiteln klassifiziert sind bzw. *C. difficile* als Erreger“ entlassen. Insgesamt waren 69.250 Patienten in den Jahren 2004 bis 2008 an der Universitätsklinik für Innere Medizin in stationärer Behandlung. Davon konnte bei 438 (0,63%) Patienten *C. difficile* mittels Toxintest oder Stuhlkultur nachgewiesen werden. Allerdings fand sich lediglich bei 212 (48,4%) von 438 positiv getesteten Patienten die ICD-10 Diagnose „A04.7“ oder „B96.8“ in den im MEDOCS kodierten Diagnosen.

	Insgesamt an der Universitätsklinik für Innere Medizin stationäre Patienten	Anzahl der positiv auf <i>C. difficile</i> getesteten Patienten	Anzahl der im MEDOCS erfassten Diagnosen „A04.7“ oder „B96.8“
2004	13.386	92 (0,69%)	16 (0,12%)
2005	13.456	72 (0,54%)	39 (0,29%)
2006	13.470	82 (0,61%)	47 (0,35%)
2007	14.395	81 (0,56%)	54 (0,38%)
2008	14.543	111 (0,76%)	56 (0,39%)

Tabelle 7: In den Jahren 2004 – 2008 insgesamt an der Universitätsklinik für Innere Medizin stationäre Patienten und Anzahl der positiv auf *C. difficile* getesteten Patienten (Anteil an den insgesamt stationären Patienten dieses Jahres in %) sowie Anzahl der im MEDOCS erfassten Diagnosen „A04.7“ oder „B96.8“ zur Klassifizierung von Clostridien Infektionen (Anteil an den insgesamt stationären Patienten dieses Jahres in %)

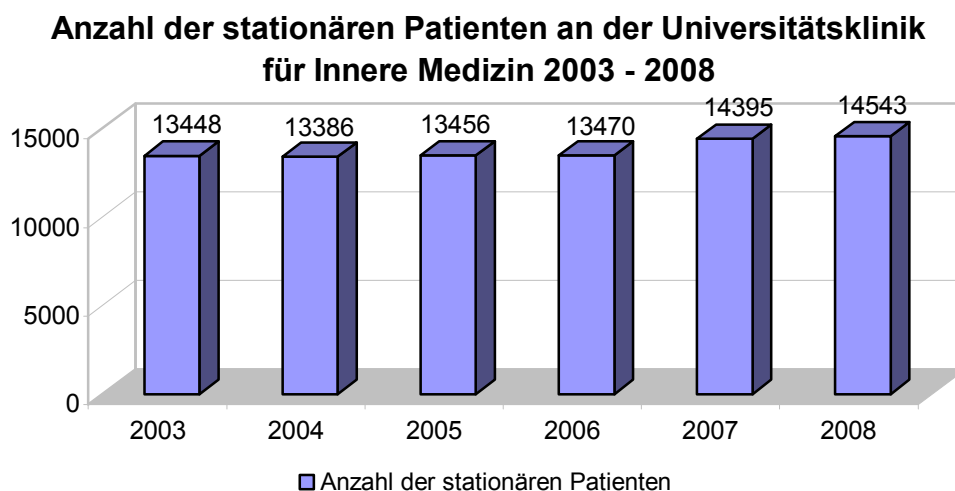


Abbildung 17: Anzahl der in den Jahren 2003 bis 2008 an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz stationären Patienten

Anzahl der mit der ICD-10 Diagnose "B96.8" kodierten Fälle im MEDOCS 2004 - 2008

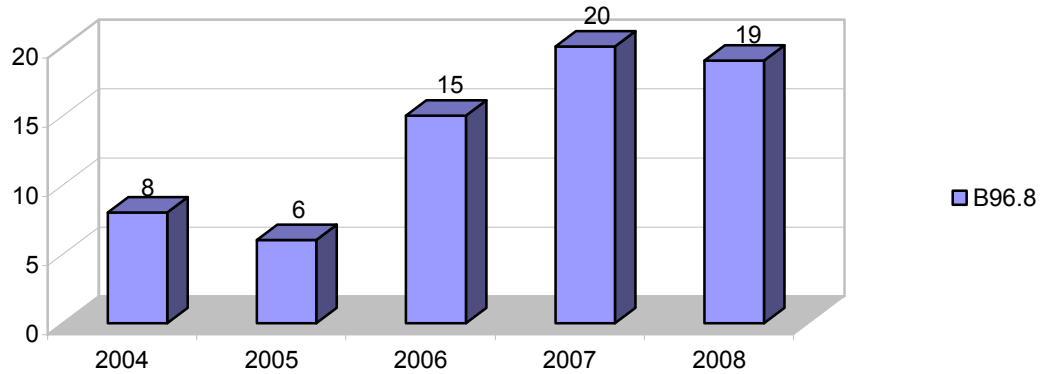


Abbildung 18: Anzahl der Fälle mit der ICD-10 Diagnose „B96.8 Sonstige näher bezeichnete Bakterien als Ursache von Krankheiten, die in anderen Kapiteln klassifiziert sind bzw. *C. difficile* als Erreger“ in den Jahren 2004 bis 2008 an der Universitätsklinik für Innere Medizin

Anzahl der mit der ICD-10 Diagnose "A04.7" kodierten Fälle im MEDOCS 2004 - 2008

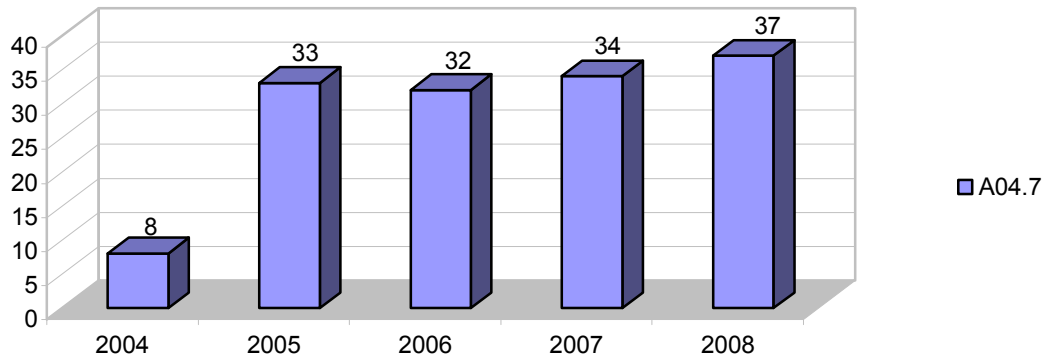


Abbildung 19: Anzahl der Fälle mit der ICD-10 Diagnose „A04.7 Enterokolitis durch *C. difficile*“ in den Jahren 2004 bis 2008 an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz

	Positiv auf <i>C. difficile</i> getestete Stuhlproben	Anzahl der im MEDOCS erfassten ICD-10 Diagnosen „A04.7“ und/oder „B96.8“
2004	92	16 (17,39%)
2005	72	39 (54,17%)
2006	82	47 (57,32%)
2007	81	54 (66,67%)
2008	111	56 (50,54%)

Tabelle 8: Anzahl der insgesamt positiv auf *C. difficile* getesteten Patienten im Vergleich zu den im MEDOCS erfassten ICD-10 Diagnosen „A04.7“ und/oder „B96.8“ in den Jahren 2004 bis 2008 an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz (Prozentueller Anteil der im MEDOCS erfassten ICD-10 Diagnosen an den insgesamt positiv getesteten Fällen)

In den Jahren 2004 bis 2008 wurde nur annähernd die Hälfte aller mittels Toxintest oder Stuhlkultur nachgewiesenen Clostridien Infektionen als ICD-10 Diagnose im MEDOCS erfasst. Im Jahre 2004 wurde sogar nur bei 17,39% aller nachgewiesenen Clostridien Infektionen (n=92) die ICD-10 Diagnose „A04.7: Enterokolitis durch *C. difficile*“ und/oder „B96.8 Sonstige näher bezeichnete Bakterien als Ursache von Krankheiten, die in anderen Kapiteln klassifiziert sind bzw. *C. difficile* als Erreger“ im MEDOCS erfasst. Im Jahre 2005 waren es 54,17%, 2006 waren es 57,32%, 2007 66,67% und 2008 waren es 50,54%. Zusammenfassend lässt sich also sagen, dass nur etwa die Hälfte aller mittels Toxintest oder Clostridien Kultur nachgewiesenen Clostridien Infektionen oder CDAD als ICD-10 Diagnose im MEDOCS erfasst wurde.

Anzahl der positiv getesteten Proben im Vergleich zu den im Medocs erfassten Diagnosen "B96.8" oder "A04.7" 2004 - 2008

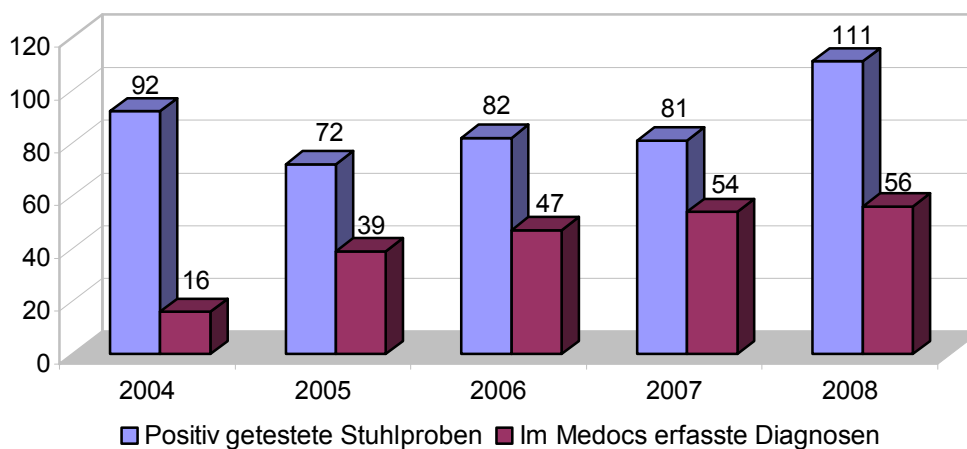


Abbildung 20: Anzahl der positiv auf *C. difficile* getesteten Stuhlproben sowie Anzahl der im MEDOCS erfassten ICD-10 Diagnosen „B96.8“ und/oder „A04.7“ in den Jahren 2004 bis 2008 an der Universitätsklinik für Innere Medizin im Vergleich

3.2 Asymptomatische Träger bei Patienten an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz

Insgesamt wurden Stuhlproben von 214 Patienten der Universitätsklinik für Innere Medizin, die keinerlei Symptome einer *C. difficile* assoziierten Erkrankung zeigten, gewonnen. Das untersuchte Patientenkollektiv setzte sich aus 103 (48%) Frauen und 111 (52%) Männern mit einem Durchschnittsalter von 68 ± 15 Jahren (Intervall 24-97 Jahre) zusammen. Das Durchschnittsalter der weiblichen Studienteilnehmer betrug 71 Jahre. Das Alter der männlichen Studienteilnehmer betrug im Mittel 65 Jahre. Die weiblichen Studienteilnehmer waren somit um durchschnittlich 6 Jahre älter als die männlichen.

Die Untersuchung wurde in der Zeit zwischen Oktober und Dezember 2008 an insgesamt 7 Stationen der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz durchgeführt. 73 und somit der Großteil der untersuchten Patienten waren auf der Gastroenterologie stationär. 53 der untersuchten Patienten waren auf der Nephrologie, 28 auf der Rheumatologie, 25 auf der Kardiologie, 19 auf der Pulmonologie, 10 auf der Endokrinologie und 6 auf der Angiologie in stationärer Behandlung.

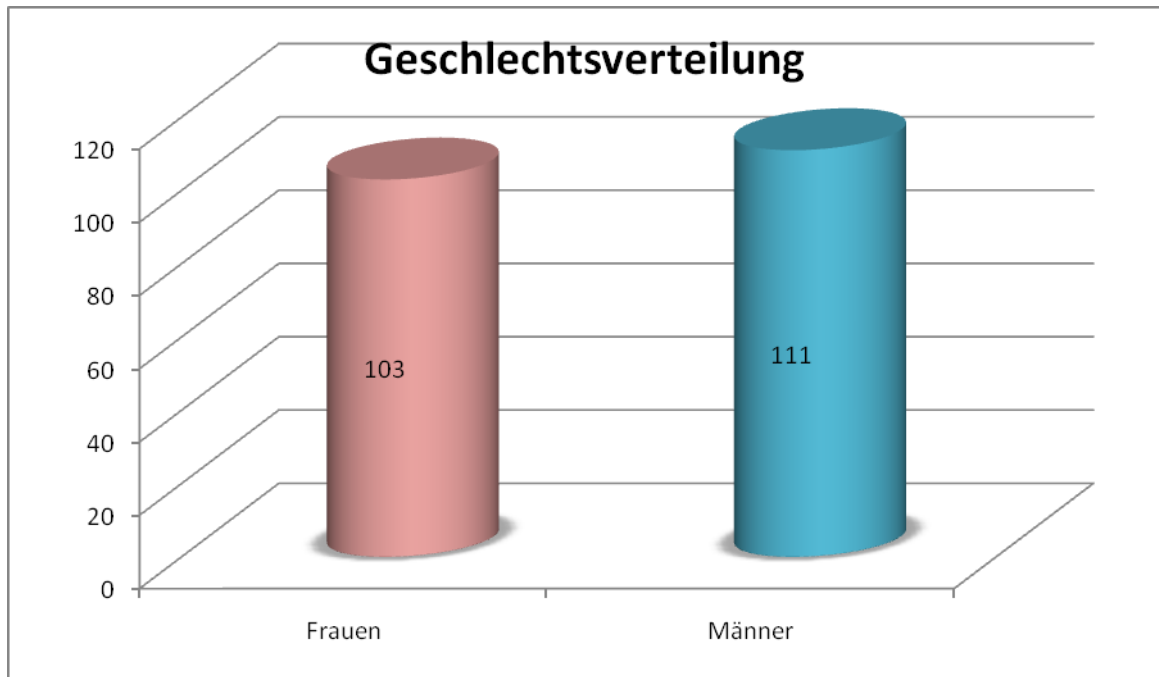


Abbildung 21: Geschlechtsverteilung im Studienkollektiv (n=214), welches sich aus 111 Männern und 103 Frauen zusammensetzte.

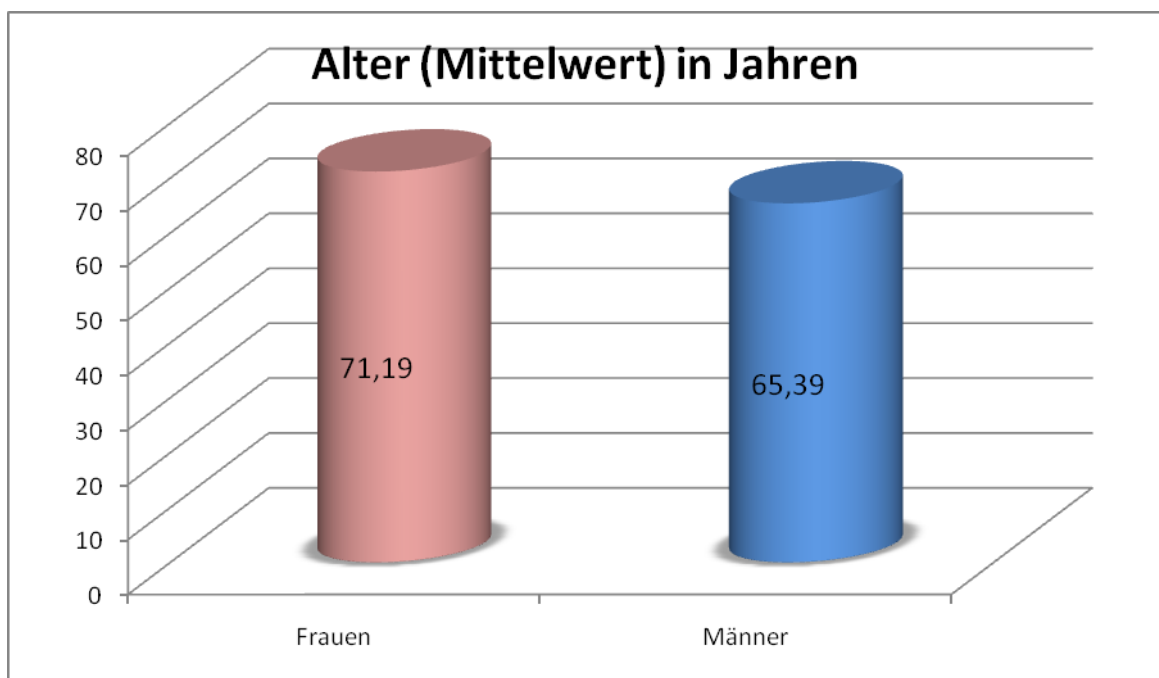


Abbildung 22: Durchschnittsalter der Frauen und der Männer im untersuchten Patientenkollektiv

Anzahl der untersuchten Patienten		214	
Alter in Jahren	68 ± 15 (Intervall 24-97)		
Geschlecht	♂ ♀	111 103	52% 48%
Anzahl der untersuchten Proben pro Station	<i>Gastroenterologie</i> <i>Nephrologie</i> <i>Rheumatologie</i> <i>Kardiologie</i> <i>Pulmonologie</i> <i>Endokrinologie</i> <i>Angiologie</i>	73 53 28 25 19 10 6	31,1% 24,8% 13,1% 11,7% 8,9% 4,7% 2,8%
Grund der stationären Aufnahme	<i>Kardiale Dekompensation</i> <i>Pneumonie</i> <i>Sonstige Grunderkrankung bei St. p. Nierentransplantation</i> <i>Harnwegsinfekt</i> <i>Pulmonalarterienembolie</i> <i>Herzrhythmusstörungen</i> <i>Dekompensierte Leberzirrhose</i> <i>Myokardinfarkt</i> <i>Pankreatitis</i> <i>Tiefe Beinvenenthrombose</i> <i>Sonstige Gründe:</i>	18 16 10 10 9 8 7 7 6 4 119	8,4% 7,9% 4,7% 4,7% 4,2% 3,7% 3,3% 3,3% 2,8% 1,8% 55,6%
Häufigste Grunderkrankungen	<i>Diabetes mellitus</i> <i>KHK</i> <i>NINS</i> <i>COPD</i>	48 39 35 23	22,4% 18,2% 16,4% 10,8%
Medikamenteneinnahme	<i>Antibiotika</i> <i>PPI</i>	104 140	48,6% 65,4%

Tabelle 9: Demographische Daten der untersuchten Patienten (n=214)

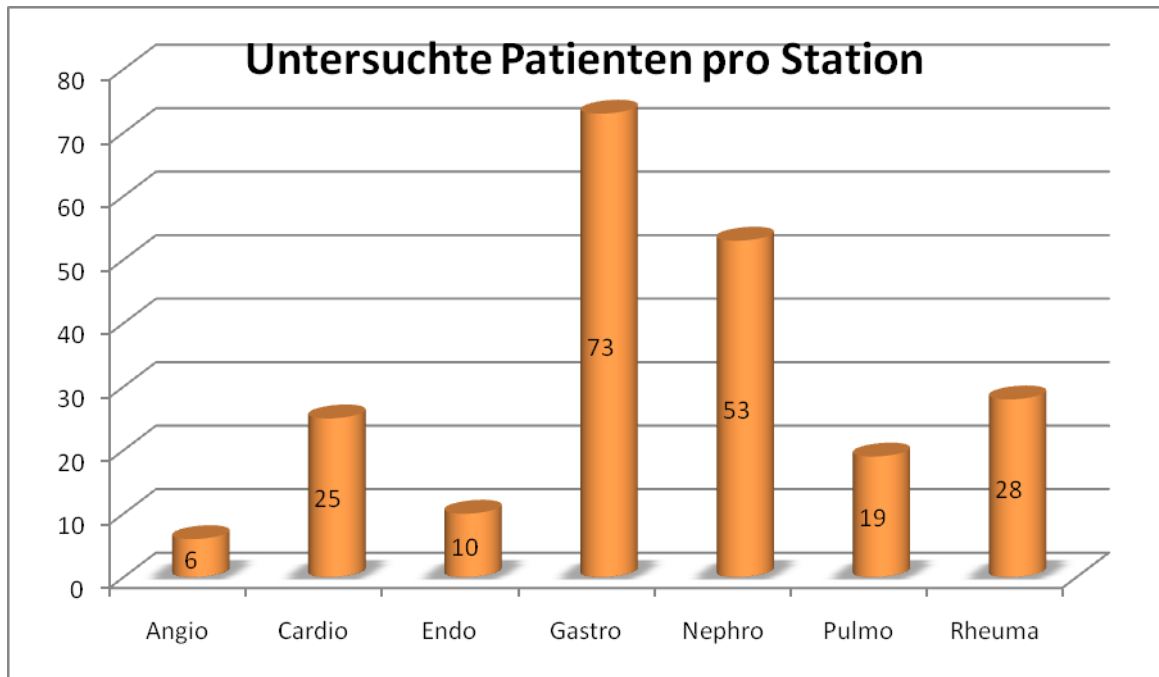


Abbildung 23: Anzahl der pro Station untersuchten Patienten

Die Gründe für die stationäre Aufnahme der Patienten waren mannigfaltig. Die häufigsten Grunderkrankungen im untersuchten Patientenkollektiv waren Diabetes mellitus (22,4%), KHK (18,2%), NINS (16,4%) und COPD (10,8%).

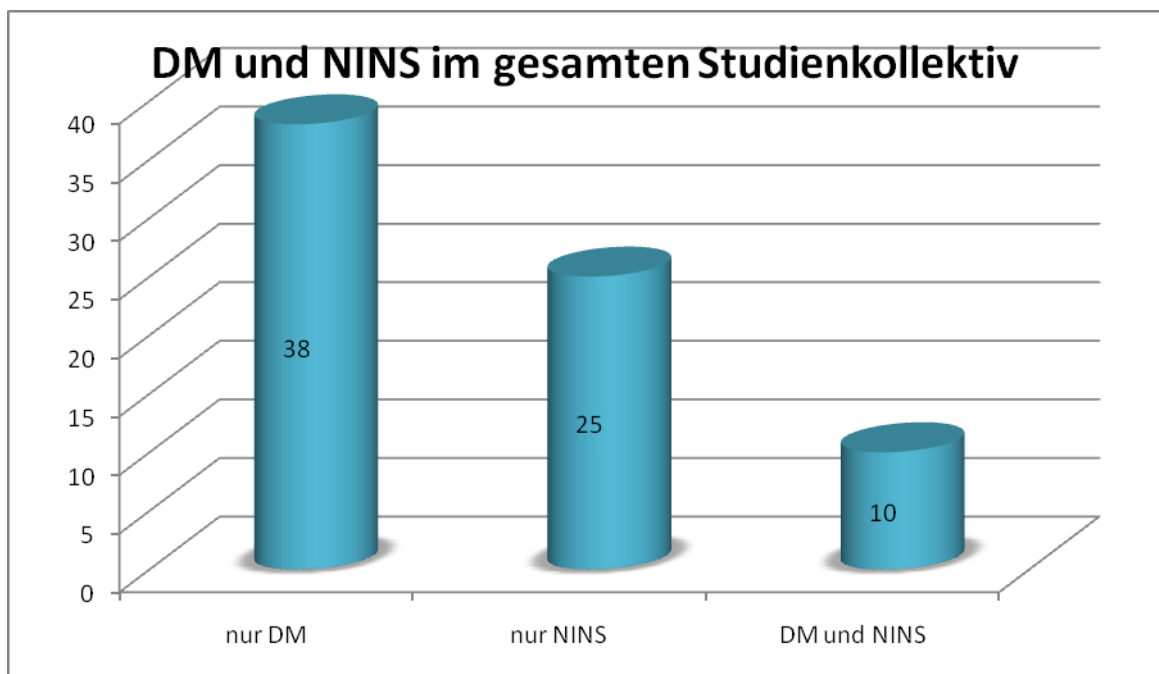


Abbildung 24: Anzahl der Patienten des gesamten Studienkollektivs (n=214), bei denen sich als Grunderkrankung entweder ein Diabetes mellitus (DM) oder eine Niereninsuffizienz (NINS) oder beides unter den Diagnosen fand.

Eine Antibiotikaeinnahme zum Zeitpunkt der Untersuchung fand sich bei 104 (49%) der Patienten und Protonenpumpeninhibitoren wurden von 140 (66%) der Patienten eingenommen. Bei 33% der Patienten fand sich eine Einnahme von Antibiotika und Protonenpumpeninhibitoren.

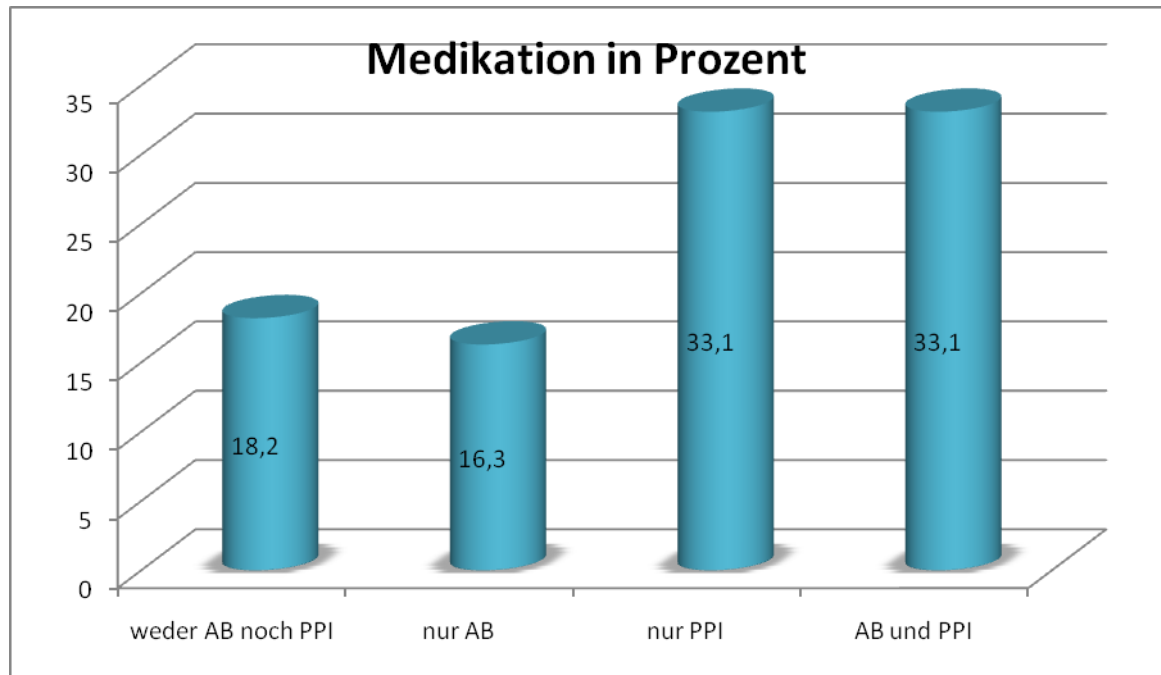


Abbildung 25: Prozentueller Anteil der Patienten des Studienkollektivs (n=214), die entweder Antibiotika (AB) und/oder Protonenpumpeninhibitoren (PPI) erhalten haben

C. difficile konnte bei insgesamt 7 von 214 asymptomatischen Patienten mittels Toxintest oder Stuhlkultur nachgewiesen werden. Dies entspricht einem prozentuellen Anteil von 3%.

Anzahl der asymptomatischen Träger von <i>C. difficile</i>		7	
Alter in Jahren	67±12 (Intervall 46-78)		
Geschlecht	♂ ♀	5 2	
Station	<i>Gastroenterologie</i> <i>Nephrologie</i> <i>Kardiologie</i> <i>Rheumatologie</i>	3 2 1 1	43% 29% 14% 14%
Grunderkrankungen	<i>Diabetes mellitus</i> <i>NINS</i> <i>COPD</i>	3 2 2	43% 29% 29%
Medikation	<i>Antibiotikum</i> <i>PPI</i>	5 5	71% 71%
Aufenthaltsdauer in Tagen	13±7 (Intervall 7-28)		

Tabelle 10: Demographische Daten der positiv getesteten Patienten (n=7)

Ein Patient wurde als „positiv getestet“ gewertet, wenn entweder der Toxintest oder die Stuhlkultur ein positives Ergebnis brachten. Von den 7 positiv getesteten Patienten mit einem Durchschnittsalter von 67 ± 12 Jahren (Intervall 46-78 Jahre) waren 5 Männer und 2 Frauen. Bei jeweils 5 der positiv getesteten Patienten fand sich die Einnahme von Antibiotika zum Zeitpunkt der Testung auf *C. difficile*. Dies entspricht einem prozentuellen Anteil von 71%. Weiters fand sich bei ebenfalls 5 (71%) der 7 asymptomatischen Träger von *C. difficile* die Einnahme von Protonenpumpeninhibitoren. Drei von 7 positiv getesteten Patienten wiesen zum Zeitpunkt der Probengewinnung sowohl eine Einnahme von Antibiotika als auch von Protonenpumpen auf. Die durchschnittliche Aufenthaltsdauer der positiv getesteten Patienten belief sich auf 13 ± 7 Tage, wobei die

Mindestaufenthaltsdauer 7 Tage und die maximale Aufenthaltsdauer 28 Tage betrug. Drei (43%) von 7 positiv getesteten Patienten waren zum Zeitpunkt der Testung auf der Abteilung für Gastroenterologie und Hepatologie stationär, 2 (29%) auf der Abteilung für Nephrologie und jeweils 1 (14%) Patient auf der Abteilung für Kardiologie und der Abteilung für Rheumatologie.

Die folgende Abbildung zeigt den Anteil der asymptomatischen Träger von *C. difficile* bei 214 getesteten Patienten der Universitätsklinik für Innere Medizin.

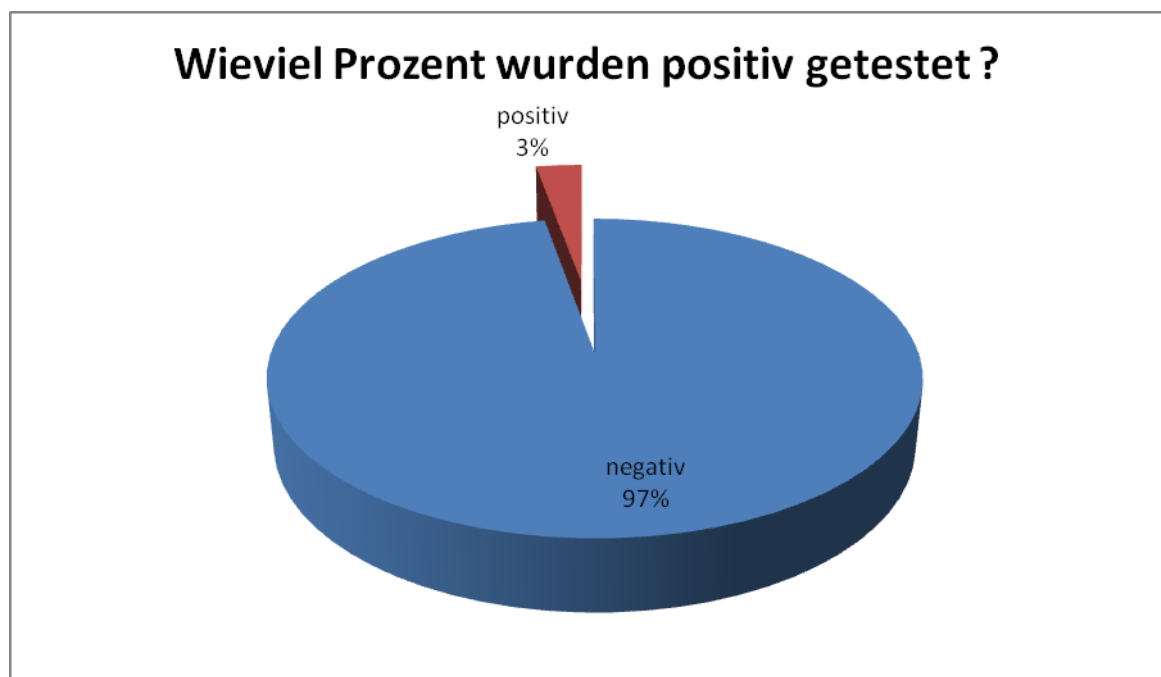


Abbildung 26: Anteil des positiv getesteten Patienten (n=7) am gesamten Studienkollektiv (n=214). Ein Patient wurde als „positiv getestet“ bezeichnet wenn entweder der Toxinschnelltest oder die Kultur für *C. difficile* oder beides positiv waren.

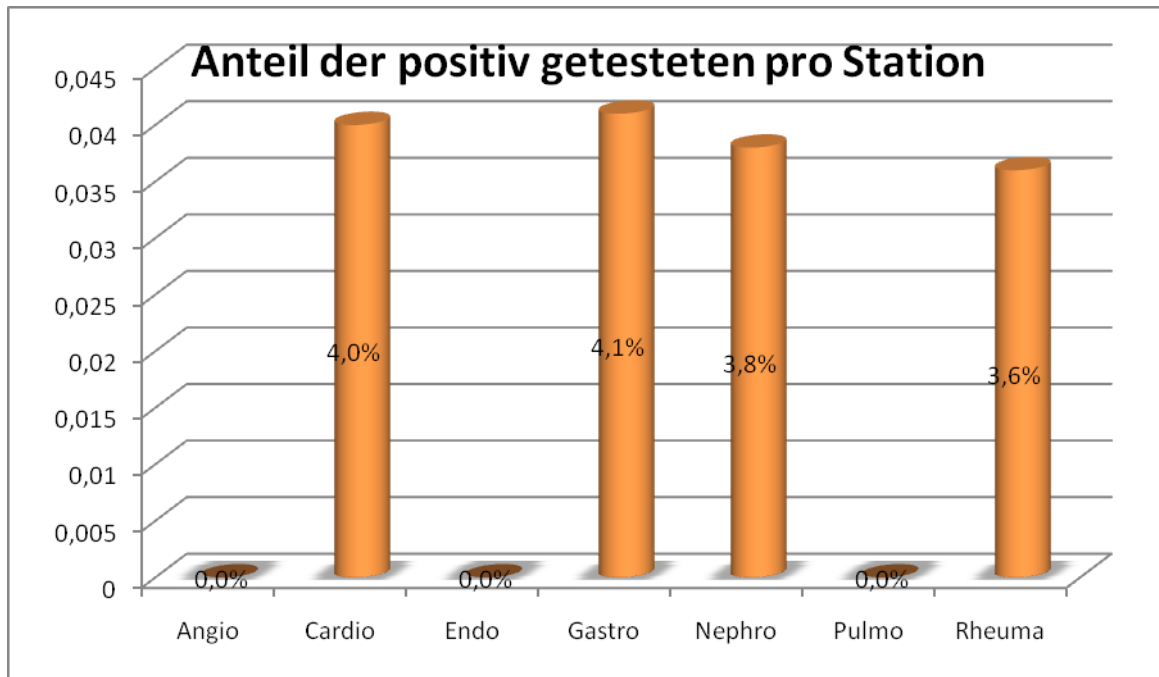


Abbildung 27: Anzahl der Patienten pro Station die „positiv“ getestet wurden (Angaben in Prozent). Der Grund für die geringe Anzahl von Fällen auf der Angiologie, der Pulmonologie und der Endokrinologie ist der im Vergleich zu den anderen untersuchten Stationen niedrige Anteil der untersuchten Proben.

	<i>Alter</i>	<i>Geschlecht</i>	<i>Station</i>	<i>Hauptdiagnose</i>
1	78	♂	Kardiologie	Pneumonie
2	55	♀	Nephrologie	Harnwegsinfekt
3	70	♀	Gastroenterologie	Pankreatitis
4	72	♂	Gastroenterologie	Diabetisches Fußsyndrom
5	77	♂	Rheumatologie	Tendovaginitis M. biceps brachii
6	46	♂	Gastroenterologie	Ulcus duodeni
7	70	♂	Nephrologie	Akut dekompensierte NINS

Tabelle 11: Demographische Daten der asymptomatischen Träger von *C. difficile* (n=7)

	<i>Protonenpumpeninhibitoren</i>	<i>Antibiotikum</i>	<i>Art des Antibiotikums</i>
1	-	+	Amoxicillin, Imipenem
2	-	+	Amoxicillin
3	+	-	
4	+	+	Imipenem
5	+	+	Cefixim
6	+	+	Clarithromycin, Amoxicillin
7	+	-	

Tabelle 12: Medikamenteneinnahme der positiv getesteten Patienten (n=7)

	<i>Dauer des stationären Aufenthalts (d)</i>	<i>Stuhlprobe am Tag</i>
1	17	14
2	11	10
3	9	8
4	12	10
5	10	8
6	7	7
7	28	28

Tabelle 13: Dauer des stationären Aufenthalts der asymptomatischen Träger von *C. difficile* (n=7), sowie Tag des stationären Aufenthalts an dem die Stuhlprobe gewonnen wurde

Um eine etwaige Kolonisation mit *C. difficile* bei den asymptomatischen Patienten nachzuweisen, wurde bei allen Stuhlproben ein Toxinschnelltest (ImmunoCard[®] Toxins A & B der Firma Meridian Bioscience, Lyon, Frankreich) durchgeführt und eine Stuhlkultur auf speziellen Agar Platten der Firma Becton Dickinson GmbH (Heidelberg, Deutschland) angelegt. Während bei nur 4 von 214 Patienten ein positiver Toxintest nachweisbar war, wuchs bei 7 von 214 Patienten *C. difficile* auf den Agarplatten an. Ein Patient wurde als „positiv“ angenommen, wenn entweder der Toxintest oder die Clostridienkultur ein positives Ergebnis erbrachte. Bei 4 von insgesamt 7 positiven Patienten konnten sowohl ein positiver Toxinnachweis, als auch eine positive Stuhlkultur erbracht werden. Bei 3 von 7 asymptomatischen Patienten konnte *C. difficile* nur anhand der Stuhlkultur nachgewiesen werden. Weiters wurde bei allen auf den Kulturmedien angezüchteten Kolonien abermals ein Toxintest durchgeführt, um eine Differenzierung zwischen toxinproduzierenden und nicht toxinproduzierenden Stämmen treffen zu können. Ein positiver Toxintest aus der Kultur ließ sich bei lediglich 3 von 7 positiven Kulturen nachweisen. Bei nur 2 von 4 Proben, bei denen die Toxine initial im Stuhl nachgewiesen werden konnten, fand sich im Anschluss ein positiver Toxintest bei den auf den Agarplatten angewachsenen Clostridien Kolonien. Bei einer Probe fand sich ein positiver Toxintest aus der Kultur, während der primär durchgeführte Toxintest aus der Stuhlprobe auch bei zweimaliger Wiederholung negative Ergebnisse brachte. In diesem Fall war die im Stuhl vorhandene Toxinmenge vermutlich unter der Nachweisgrenze des Toxinschnelltests.

	<i>Toxintest A&B aus der Stuhlprobe</i>	<i>C. difficile Kultur</i>	<i>Toxintest A&B aus der Kultur</i>
1	+	+	-
2	-	+	-
3	-	+	+
4	-	+	-
5	+	+	+
6	+	+	+
7	+	+	-

Tabelle 14: Ergebnisse der Toxintests, der *C. difficile* Kultur und der Toxintests der *C. difficile* Isolate aus den Kulturen der asymptomatischen Träger (n=7) an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz

Zusammenfassend zeigten zumindest 5 (71%) der 7 *C. difficile* Isolate der asymptomatischen Träger einen positiven Nachweis einer Toxinproduktion, wobei in einem Fall das Toxin primär nicht aus der Stuhlprobe, sondern erst aus dem *C. difficile* Isolat aus der Kultur nachgewiesen werden konnte. Bei 2 Trägern handelte es sich offenbar um eine Kolonisation mit nicht toxinproduzierenden *C. difficile* Stämmen. Keiner der positiv auf *C. difficile* getesteten asymptomatischen Patienten entwickelte im weiteren Verlauf eine CDAD.

4 Diskussion

4.1 Epidemiologie von *C. difficile* Infektionen an der Universitätsklinik für Innere Medizin Graz

Die erhobenen Daten in dieser Arbeit zeigten, dass die Zahl der zur Testung auf *C. difficile* eingesandten Stuhlproben innerhalb der letzten 8 Jahre deutlich zugenommen hat. (siehe Tabelle 15) Der Anteil der positiv getesteten an den insgesamt eingesandten Proben hat sich jedoch nicht wesentlich verändert. So betrug etwa im Jahre 2000 der Anteil der positiv getesteten Proben 4,66%, im Jahre 2008 waren es 5,97%. Der größte Anteil von positiv getesteten Proben fand sich im Jahre 2004 und betrug 8,37%. Dieser Gipfel im Jahre 2004 ist vermutlich auf ein epidemisches Auftreten von *C. difficile* an der Universitätsklinik für Innere Medizin im Laufe dieses Jahres zurückzuführen. Insgesamt wurden in den Jahren 2000 bis 2008 10.311 Stuhlproben zur Testung auf das Vorhandensein von *C. difficile* von der Universitätsklinik für Innere Medizin Graz versandt. Davon konnte bei 643 Proben *C. difficile* entweder mittels Toxintest oder Stuhlkultur nachgewiesen werden. Dies entspricht einem Anteil von 6%.

Die folgende Graphik über die CDAD Fälle in Österreich und deren Letalität in den Jahren 2001 bis 2007 anhand von Krankenhausentlassungsdaten stammt von der AGES, der österreichischen Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH. Es zeigt sich ein deutlicher Anstieg der CDAD Fälle in Österreich innerhalb der Jahre 2001 bis 2007 (siehe Abbildung 28). Auch an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz ließ sich ein Anstieg der positiv auf *C. difficile* getesteten Stuhlproben verzeichnen, was aber in erster Linie darauf zurückzuführen ist, dass im Laufe der Jahre immer mehr Proben auf *C. difficile* untersucht wurden.

	2000	2008
Eingesandte Proben	644	1860 (+288%)

Tabelle 15: Anzahl der zur Testung auf *C. difficile* eingesandten Proben in den Jahren 2000 und 2008 im Vergleich

Während es im Jahre 2000 noch 644 Stuhlproben waren, die auf das Vorhandensein von *C. difficile* getestet wurden, waren es im Jahre 2008 bereits 1860 Proben (+288%), die zum Clostridien Nachweis versandt wurden. Die Anzahl der untersuchten Stuhlproben hat sich also über den Zeitraum von 9 Jahren nahezu verdreifacht. (siehe Tabelle 15)

Anzahl der CDAD-Fälle und Letalität, Ö, 2001-2007

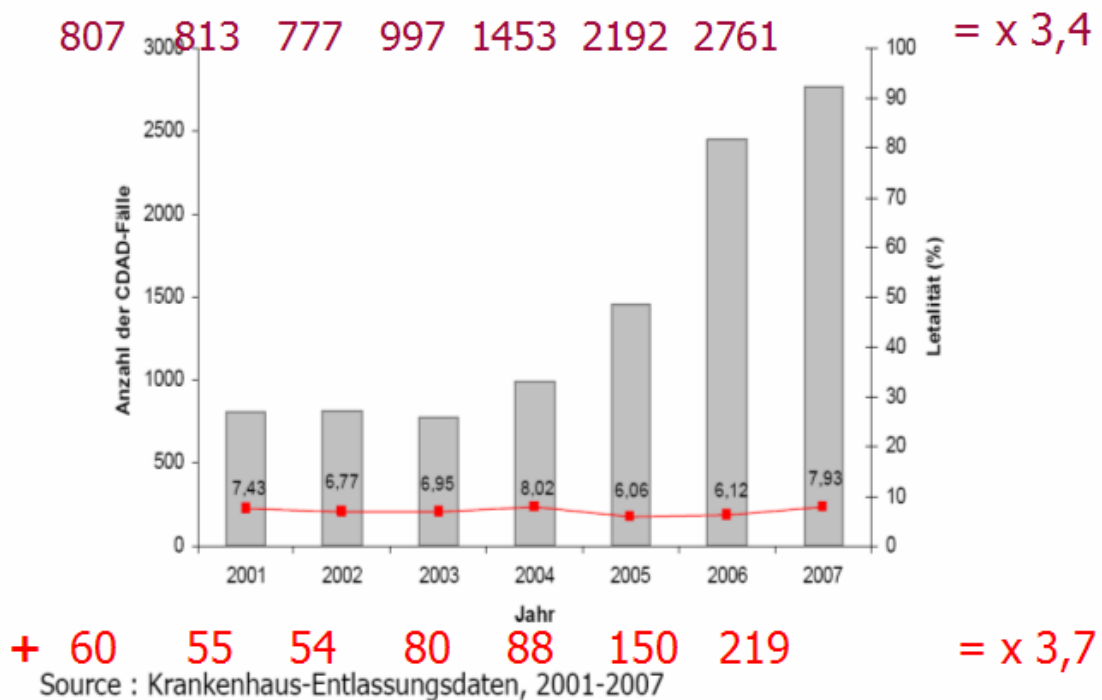
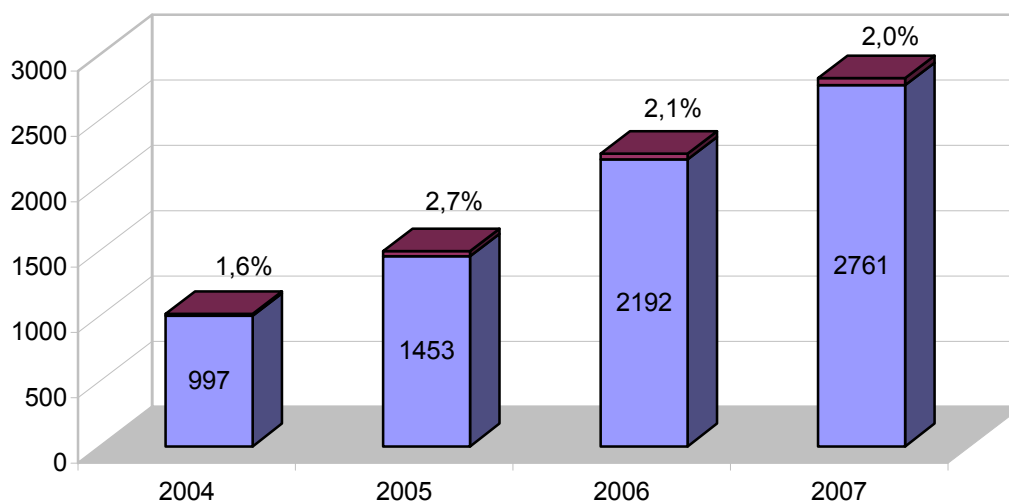


Abbildung 28: Graphische Darstellung der CDAD Fälle und deren Letalität in Österreich. Diese Daten wurden von der AGES, der österreichischen Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH, anhand der Krankenhausentlassungsdaten in den Jahren 2001 bis 2007 erhoben. Es zeigt sich ein deutlicher Anstieg der CDAD Fälle innerhalb der Jahre 2001 bis 2007. Die in violett gehaltenen Zahlen beschreiben die Anzahl der CDAD Fälle pro Jahr. Anhand dieser Graphik lässt sich die Aussage treffen, dass sich die Anzahl der CDAD Fälle über die Jahre mehr als verdreifacht hat (x 3,4). Die in rot gehaltenen Zahlen zeigen die Anzahl der Todesfälle an CDAD pro Jahr, welche sich im Laufe der Jahre nahezu vervierfacht (x 3,7) hat.

	Anzahl der CDAD Fälle in Österreich (Quelle: AGES, Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH)	Anzahl der im MEDOCS erfassten ICD-10 Diagnosen für <i>C. difficile</i>
2004	997	16 (1,6%)
2005	1453	39 (2,7%)
2006	2192	47 (2,1%)
2007	2761	54 (2,0%)

Tabelle 16: Vergleich der in Österreich nachgewiesenen CDAD Fälle (Datenquelle: AGES, Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH) mit den in den Entlassungsunterlagen der Patienten kodierten ICD-10 Diagnosen an der UKIM in Graz in den Jahren 2004 bis 2007 (In Klammer ist der prozentuelle Anteil der im MEDOCS erfassten ICD-10 Diagnosen der Patienten der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz an den insgesamt nachgewiesenen CDAD Fällen in Österreich dargestellt.)

CDAD Fälle laut Entlassungsdiagnosen an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz im Vergleich zu den anhand der Krankenhausentlassungsdaten dokumentierten CDAD Fälle in Österreich in den Jahren 2004 bis 2007



- Anzahl der CDAD Fälle aus den Entlassungsdiagnosen der Patienten der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz
- Anzahl der CDAD Fälle in Österreich (Datenquelle: AGES)

Abbildung 29: Anzahl der im MEDOCS kodierten ICD-10 Diagnosen, die eine CDAD beschreiben, der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz im Vergleich zu den anhand der Krankenhausentlassungsdaten erhobenen Anzahl der CDAD Fälle in Österreich (Datenquelle: AGES) in den Jahren 2004 bis 2007. Der Anteil der an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz dokumentierten CDAD Fälle an den insgesamt in Österreich dokumentierten CDAD Fällen beträgt im Mittel etwa 2%.

An der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz wurde ein Anstieg der nachgewiesenen *C. difficile* Fälle von 30 im Jahre 2000 auf 111 im Jahre 2008 beobachtet. Dieser Anstieg der CDAD Fälle lässt sich in erster Linie durch die Verdreifachung des Probenversandes über die Jahre erklären, wobei, wie bereits erwähnt, der Anteil der positiv auf *C. difficile* getesteten Proben über die Jahre relativ konstant geblieben ist und zwischen 4,66% und 8,37% liegt. Im Durchschnitt beträgt der Anteil der positiv auf *C. difficile* getesteten Proben pro Jahr rund 6%. Es stellt sich die Frage, ob die Verdreifachung der CDAD Fälle in Österreich, wie sie in der Graphik der AGES dargestellt ist, tatsächlich auf eine Zunahme der Clostridieninfektionen in Österreich zurückzuführen ist oder ob auch in diesem Fall die vermehrte Testung von Stuhlproben auf *C. difficile* den Anstieg erklärt. In diesem Fall wäre es interessant gewesen, wie hoch die Anzahl der zur Testung auf *C. difficile* versandten Proben in Österreich beziehungsweise der Anteil der positiv getesteten Proben im Verhältnis dazu war.

Von den in den Jahren 2004 bis 2007 an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz positiv auf *C. difficile* getesteten Patienten wurde nur etwa bei der Hälfte eine entsprechende ICD-10 Diagnose im MEDOCS erfasst („A04.7: Enterokolitis durch *C. difficile*“ oder „B96.8: Sonstige näher bezeichnete Bakterien als Ursache von Krankheiten, die in anderen Kapiteln klassifiziert sind bzw. *C. difficile* als Erreger“).

Die Tatsache, dass nur etwa die Hälfte aller im Labor nachgewiesenen Clostridien Infektionen als ICD-10 Diagnose „A04.7“ oder „B96.8“ im MEDOCS erfasst wurde, lässt den Schluss zu, dass bei einer alleinigen Datenerhebung aus den Entlassungsdiagnosen die Anzahl der CDAD Fälle an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz deutlich geringer gewesen wäre als bei der vergleichsweise durchgeführten Erhebung der positiv getesteten Stuhlproben für *C. difficile* an den mikrobiologischen Laboratorien.

In der folgenden Tabelle ist die Anzahl der insgesamt an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz stationären Patienten sowie die Anzahl der im MEDOCS erfassten ICD-10 Diagnosen „A04.7“ und/oder „B.96.8“ in den Jahren 2004 bis 2008 dargestellt.

	Gesamtzahl der an der UKIM in Graz stationären Patienten	In den Entlassungsdaten der Patienten kodierte ICD-10 Diagnosen, die eine CDAD beschreiben	CDAD Fälle pro 1000 Patienten der UKIM (anhand der im MEDOCS kodierte ICD-10 Diagnosen)
2004	13.386	16	1,2
2005	13.456	39	2,9
2006	13.470	47	3,5
2007	14.395	54	3,8
2008	14.543	56	3,9

Tabelle 17: Anzahl der insgesamt an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz stationäre Patienten und der im MEDOCS kodierte ICD-10 Diagnosen, die eine CDAD beschreiben, in den Jahren 2004 bis 2008 sowie Anzahl der CDAD Fälle pro 1000 stationären Patienten pro Jahr. Durchschnittlich konnte in den Jahren 2004 bis 2008 bei 3 von 1000 stationären Patienten an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz eine *C. difficile* assoziierte Erkrankung diagnostiziert werden.

	Gesamtzahl der an der UKIM in Graz stationären Patienten	Anzahl der positiv auf <i>C. difficile</i> getesteten Proben	Anzahl der positiv auf <i>C. difficile</i> getesteten Proben pro 1000 Patienten der UKIM
2004	13.386	92	6,9
2005	13.456	72	5,4
2006	13.470	82	6,1
2007	14.395	81	5,6
2008	14.543	111	7,6

Tabelle 18: Anzahl der insgesamt an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz stationäre Patienten und Anzahl der positiv auf *C. difficile* getesteten Proben in den Jahren 2004 bis 2008, sowie Anzahl der positiven Proben pro 1000 Patienten.

Im Jahre 2004 konnte bei etwa 1 von 1000 an der Universitätsklinik für Innere Medizin stationären Patienten eine CDAD diagnostiziert werden. In den Jahren 2007 und 2008 fanden sich bei etwa 4 von 1000 stationären Patienten die ICD-10 Diagnosen „A04.7“ und/oder „B96.8“ in den Entlassungsdaten.

Durchschnittlich findet sich bei 3 von 1000 stationären Patienten der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz pro Jahr eine Entlassungsdiagnose, die eine CDAD beschreibt. (siehe Tabelle 17) Bei etwa 6 von 1000 Patienten pro Jahr konnte *C. difficile* im Labor nachgewiesen werden. (siehe Tabelle 18)

In Österreich konnte anhand der von der AGES erhobenen Krankenhausentlassungsdaten von 2001 bis 2007 ein Anstieg der *C. difficile* assoziierten Erkrankungen ein Anstieg von 807 auf 2761 Fälle verzeichnet werden. Auch die Anzahl der Todesfälle in Verbindung mit der Diagnose „CDAD“ hat sich im Laufe der Jahre um das 3,7fache erhöht. (siehe Abbildung 28)

Auch in anderen Ländern Europas und in den USA ist ein starker Anstieg der Enterokolitiden durch *C. difficile* zu vermerken. Vor allem in den USA und in Kanada stieg die Anzahl schwerer CDAD Ausbrüche seit dem Jahre 2003 merklich an. In erster Linie wurde der neue hochvirulente flurochinolonresistente Stamm BI/NAP1/O27 für diese Epidemien verantwortlich gemacht. Die Inzidenz von *C. difficile* assoziierten Erkrankungen in Gesundheitseinrichtungen reicht von 0 bis 15 Fällen pro 100 Patienten. Im Rahmen eines epidemischen Ausbruchs kann die Inzidenz auf bis zu 20 Fälle pro 100 Patienten ansteigen. (McFarland 2008) Die Inzidenz von CDAD Fällen in Krankenhäusern ist von mehreren Faktoren abhängig. Zum ersten spielt es eine Rolle, um welche Patienten es sich handelt. So finden sich bei einem Alter über 65 Jahren weitaus häufiger *C. difficile* Infektionen als bei jüngeren Patienten. Zudem spielen die Verwendung von Antibiotika, die ja als der Risikofaktor schlechthin für das Auftreten von CDAD gelten, sowie die hygienischen Bedingungen in der Gesundheitseinrichtung eine wichtige Rolle. Strenge hygienische Maßnahmen, wie etwa das Tragen von Handschuhen, die Verwendung von hypochlorithältigen Flächendesinfektionsmitteln, die in der Lage sind, auch die Sporen abzutöten, sowie die logistisch nicht immer einfach durchzuführende etwaige Isolation von Patienten mit einer *C. difficile* assoziierten Erkrankung, sind vor allem im Rahmen epidemischer Ausbrüche von Nöten um das Kontaminationsrisiko einzudämmen.

Während im Laufe der letzten Jahre zwar immer mehr Proben zur Testung auf *C. difficile* von der Universitätsklinik für Innere Medizin versandt wurden, blieb der prozentuelle Anteil der positiv getesteten Proben über die Jahre weitgehend konstant. So wurden zwar im Jahre 2008 etwa dreimal so viele Proben versandt als im Jahre 2000. Der relative Anteil

der positiv auf *C. difficile* getesteten Proben blieb bis auf gewisse Schwankungen im Wesentlichen gleich. Im Jahre 2000 betrug der Anteil der positiv auf *C. difficile* getesteten Proben 4,7%, wohingegen sich im Jahre 2008 bei etwa 6% der insgesamt auf *C. difficile* getesteten Proben ein positives Ergebnis zeigte. Die Ergebnisse lassen daher keinen Rückschluss auf ein vermehrtes Auftreten von *C. difficile* assoziierten Erkrankungen an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz im Laufe der letzten Jahre zu. Die Verdreifachung der getesteten Proben lässt sich in erster Linie dadurch erklären, dass bei den Krankenhausärzten der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz ein vermehrtes Augenmerk auf diese Infektionen gelegt wurde. Dies ist möglicherweise durch die vor allem in den USA und in Kanada stattgehabten Ribotyp O27 Epidemien und die entsprechenden Publikationen zurückzuführen. *C. difficile* gilt wie bereits eingangs erwähnt als einer der wichtigsten nosokomialen Erreger unserer Zeit. Zudem bietet sich heutzutage durch immer wieder neu auf den Markt kommende Testsysteme die Möglichkeit, *C. difficile* einfach und schnell im Labor nachzuweisen.

Bei nur etwa der Hälfte der Patienten, die in den Jahren 2004 bis 2008 positiv auf *C. difficile* getestet wurden, fanden sich die ICD-10 Diagnosen „A04.7 Enterokolitis durch *C. difficile*“ und/oder „B96.8 Sonstige näher bezeichnete Bakterien als Ursache von Krankheiten, die in anderen Kapiteln klassifiziert sind bzw. *C. difficile* als Erreger“, die eine CDAD beschreiben, in den Entlassungsdiagnosen. Das bedeutet, dass das alleinige Heranziehen der Krankenhausentlassungsdaten, wie es beispielsweise im Rahmen der Erhebung der CDAD Fälle in Österreich und deren Letalität durch die AGES (Abbildung 28) geschehen ist, nicht ausreichend gewesen wäre, um epidemiologische Veränderungen von Clostridieninfektionen an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz erfassen zu können.

4.2 Asymptomatische Träger bei Patienten der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz

Von den 214 untersuchten Stuhlproben von asymptomatischen Patienten der Universitätsklinik für Innere Medizin, konnte bei lediglich 7 Patienten *C. difficile* entweder mittels Toxintest und/oder Stuhlkultur nachgewiesen werden. Dies entspricht einem prozentuellen Anteil von nur 3%. Das untersuchte Patientenkollektiv mit einem durchschnittlichen Alter von 68 ± 15 Jahren und einer durchschnittlichen stationären Aufenthaltsdauer von 13 ± 7 Tagen setzte sich aus 111 Männern und 103 Frauen zusammen. Die Stuhlprobe wurde frühestens nach 7 Tagen stationären Aufenthalts gewonnen.

Bei 5 (71%) der 7 *C. difficile* Isolate konnte eine Toxinproduktion nachgewiesen werden. Bei den verbleibenden 2 Proben handelte es sich mit großer Wahrscheinlichkeit um nicht toxinproduzierende Stämme oder um Toxinmengen, die unter der Nachweisgrenze des verwendeten Toxintests lagen. Die Häufigkeit von asymptomatischen Trägern toxinproduzierender Stämme an der UKIM in Graz beträgt somit lediglich 2%.

Eine der ersten Arbeiten, die sich mit der nosokomialen Verbreitung von *C. difficile* beschäftigte, stammt aus dem Jahre 1989. Mc Farland et al. untersuchten 428 Patienten einer Abteilung für Innere Medizin in Seattle über 11 Monate hinweg auf das Vorhandensein von *C. difficile* im Stuhl. Patienten, deren stationärer Aufenthalt weniger als 48 Stunden betrug sowie Patienten die an einer schweren Grunderkrankung litten wurden aus der Studie ausgeschlossen. Innerhalb von 48 Stunden nach stationärer Aufnahme wurde die erste Stuhlprobe gewonnen. Alle drei Tage wurde die Stuhluntersuchung wiederholt. Die Proben wurden auf speziellen *C. difficile* Agar Platten kultiviert und für 48 Stunden unter anaeroben Bedingungen im Brutschrank inkubiert. Bei 29 von 428 Patienten (7%) fand sich bereits zum Zeitpunkt der stationären Aufnahme *C. difficile* im Darm. Bei 83 (21%) von den primär nicht kolonisierten 399 Patienten konnte *C. difficile* im weiteren Verlauf des Aufenthalts nachgewiesen werden. 52 (63%) von den 83 Patienten, die sich im Rahmen des stationären Aufenthalts mit *C. difficile* infizierten, blieben asymptomatisch, bei 26 (31%) entwickelte sich Antibiotika assoziierter Durchfall und bei 5 Patienten (6%) entwickelte sich Durchfall ohne die vorangegangene Gabe von Antibiotika. Von den 29 Patienten, die bereits zum Zeitpunkt der stationären Aufnahme kolonisiert waren, konnte bei 23 (80%) in der Vorgeschichte ein Aufenthalt in einer

Gesundheitseinrichtung gefunden werden, die restlichen 6 (20%) wurden vermutlich auf anderem Wege infiziert. 17 (58%) von diesen 29 Patienten waren asymptomatische Träger. Die durchschnittliche Dauer zwischen Aufnahmetag und erstem Keimnachweis betrug im Mittel 12 Tage. Bei etwa 25% der 83 Patienten, die sich im Rahmen des stationären Aufenthalts infizierten, konnte *C. difficile* bereits eine Woche nach der stationären Aufnahme nachgewiesen werden, bei 60% nach etwa 2 Wochen. (McFarland, Mulligan et al. 1989)

Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurden die Stuhlproben zur Testung auf *C. difficile* ab dem 7. Tag des stationären Aufenthalts gewonnen. Die durchschnittliche Aufenthaltsdauer des Patientenkollektivs (n=214) betrug 13 ± 7 Tage. Es ist daher möglich, dass die Häufigkeit von asymptomatischen Trägern durch den kürzeren stationären Aufenthalt geringer war als in bisher durchgeführten Studien.

In einer Studie von Johnson et al. aus dem Jahre 1990 wurden Stuhlproben von insgesamt 282 Patienten mit *C. difficile* Kulturen auf das Vorhandensein von *C. difficile* untersucht. Die Stuhlproben wurden ab einer Mindestaufenthaltsdauer von 7 Tagen gewonnen. Bei 60 (21%) der untersuchten 282 Patienten konnte *C. difficile* im Stuhl nachgewiesen werden. 51 der 60 positiv getesteten Patienten blieben asymptomatisch, wohingegen 9 Patienten im Laufe der 9-wöchigen follow-up Phase Durchfall oder eine CDAD entwickelten. (Johnson, Clabots et al. 1990)

In der zuvor zitierten Arbeit von McFarland et al. konnte bei 29 von 428 stationären Patienten *C. difficile* bereits zum Zeitpunkt der stationären Aufnahme nachgewiesen werden. In einer Folgearbeit wurden die restlichen 399 Patienten, bei denen die Kultur für *C. difficile* zum Zeitpunkt der stationären Aufnahme negativ war, herangezogen, um Risikofaktoren für den nosokomialen Erwerb von *C. difficile* zu ermitteln. Bei 83 der 399 Patienten, die zum Zeitpunkt der stationären Aufnahme weder mit *C. difficile* kolonisiert noch infiziert waren, konnte im Lauf des stationären Aufenthalts *C. difficile* nachgewiesen werden. Von diesen 83 Patienten konnten 52 (63%) als asymptomatische Träger identifiziert werden. Als maßgebliche Risikofaktoren für nosokomiale *C. difficile* Infektionen konnten höheres Alter und schwerwiegende Grunderkrankungen geltend gemacht werden. Als Risikofaktoren für die asymptomatische Kolonisation mit *C. difficile* wurden im Rahmen dieser Studie Laxantien und Antazida identifiziert. Antazida erhöhen

das Risiko einer Kolonisation durch die Beeinflussung der Barrierefunktion der Magensäure gegenüber enteropathogenen Keimen. Über welchen Mechanismus Laxantien das Risiko einer Kolonisation mit *C. difficile* erhöhen, ist unklar, möglicherweise kommt es durch diese Medikamente zu Veränderungen des osmotischen Gleichgewichts im Darmlumen. Risikofaktoren die mit dem Auftreten von *C. difficile* assoziierter Diarrhoe in Verbindung gebracht wurden, waren die Verwendung von Penicillinen oder Cephalosporinen, Anämie und abermals Laxantien. Im Rahmen dieser Studie handelte es sich beim Großteil aller mit *C. difficile* kolonisierten Patienten um asymptomatische Träger.(McFarland, Surawicz et al. 1990)

In einer Studie von Kyne et al. wurden 271 Patienten mittels Stuhlproben und Zytotoxizitätstest auf das Vorhandensein von *C. difficile* untersucht. Im Rahmen dieser Studie versuchte man herauszufinden, ob erhöhte Serum IgG Spiegel gegen das Toxin A einen Einfluss auf das Risiko einer Kolonisation mit *C. difficile* haben. Von den 271 untersuchten Patienten waren 37 (14%) zum Zeitpunkt der stationären Aufnahme mit *C. difficile* kolonisiert. 18 dieser 37 kolonisierten Patienten waren asymptomatische Träger. 47 (17%) Patienten infizierten sich im Laufe des stationären Aufenthalts, davon blieben 19 Patienten asymptomatisch. Das gesamte Patientenkollektiv erhielt zum Zeitpunkt der Untersuchung eine antibiotische Therapie und war mindestens für zwei Tage stationär. Die Rate an asymptomatisch kolonisierten Probanden zum Zeitpunkt der stationären Aufnahme betrug also 6,6% (18 von 271). Die Rate der asymptomatisch kolonisierten Patienten im Krankenhaus betrug etwa 7% (19 von 271). (Kyne, Warny et al. 2000)

In einer Arbeit über die Rolle von *Klebsiella oxytoca* bei Antibiotika assoziierter Diarrhoe von Zollner-Schwetz et al. aus dem Jahre 2008 wurden von November 2006 bis Februar 2008 Stuhlproben von 371 Patienten an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz untersucht. Neben *K. oxytoca* wurden die Stuhlproben auch auf das Vorhandensein anderer Keime, unter anderem *C. difficile*, untersucht. Das gesamte Patientenkollektiv wurde in 4 Gruppen unterteilt. Die höchsten Raten von *C. difficile* fanden sich bei Patienten, die an Durchfall litten und Antibiotika erhalten hatten. Bei den Patienten die zwar nicht an Durchfall litten, jedoch antimikrobielle Substanzen verabreicht bekommen hatten und in der Patientengruppe, bei der weder die Einnahme von Antibiotika noch Durchfall in der Anamnese bekannt war, konnte *C. difficile* nicht nachgewiesen werden. Diese

Patientengruppe, die den asymptomatischen Trägern entsprochen hätte, umfasste 204 Patienten. (Zollner-Schwetz, Högenauer et al. 2008)

Von den im Rahmen dieser Arbeit untersuchten 214 Patienten fand sich bei 48,6% die Einnahme von Antibiotika und bei 65,42% die Einnahme von Protonenpumpeninhibitoren. Bei den 7 positiv auf *C. difficile* getesteten Patienten fand sich bei jeweils 5 Probanden die Einnahme von Antibiotika oder Protonenpumpeninhibitoren. Bei 3 der 7 asymptomatischen Träger konnte sowohl die Einnahme von Antibiotika als auch von Protonenpumpeninhibitoren nachgewiesen werden. Im Gegensatz zur Patientengruppe in der Arbeit von Zollner-Schwetz et al., die den asymptomatischen Trägern dieser Untersuchung entsprochen hätte, wurden im Rahmen dieser Untersuchung die Stuhlproben erst nach einer Mindestaufenthaltsdauer von 7 Tagen gewonnen. Die längere Aufenthaltsdauer im Krankenhaus erhöht die Wahrscheinlichkeit mit *C. difficile* in Berührung zu kommen.

Patienten, die mit *C. difficile* infiziert oder kolonisiert sind, dazu sind auch die asymptomatischen Träger zu zählen, stellen eine wichtige Infektionsquelle für andere Patienten in Gesundheitseinrichtungen dar. Vor allem die Rolle der asymptomatischen Träger sollte nicht unterschätzt werden. Die Menge an ausgeschiedenen Keimen ist zwar bei Patienten, die an Durchfall leiden, wesentlich höher als bei asymptomatischen Trägern, dennoch kann es zur Kontamination der Umgebung oder zur Übertragung durch die Hände des Krankenhauspersonals auf andere Patienten kommen. (McFarland, Mulligan et al. 1989)

Es gab bereits einige Arbeiten, die sich mit asymptomatischen Trägern von *C. difficile* in der gesunden Bevölkerung außerhalb von Gesundheitseinrichtungen beschäftigten.

In einer Arbeit von Kato et al. im Jahre 2000 wurden 1234 gesunde Erwachsene, die in den letzten 4 Wochen vor Beginn der Studie nicht antibiotisch behandelt wurden, auf die Kolonisation mit *C. difficile* hin untersucht. Diese 1234 Probanden wurden in Gruppen unterteilt. Bei drei Gruppen handelte es sich um Studenten, bei einer Gruppe um Firmenangestellte und eine weitere Gruppe bestand aus Sicherheitsbediensteten. Um auf eine etwaige höhere Kolonisationsrate bei Bediensteten in Gesundheitseinrichtungen schließen zu können, wurden unter anderem 2 Gruppen von Spitalsbediensteten untersucht. Bei 94 (7,6%) von 1234 konnte *C. difficile* im Stuhl nachgewiesen werden. Die Rate an

gesunden Trägern schwankte in den einzelnen Gruppen zwischen 4,2% und 15,3%, wobei bei Bediensteten in Gesundheitseinrichtungen keine erhöhte Kolonisationsrate nachgewiesen werden konnte. Eine der höchsten Raten an gesunden Trägern fand sich innerhalb einer Gruppe von Studenten. Diese Studie zeigte, dass die Anzahl der gesunden Träger in den einzelnen Gruppen sehr unterschiedlich war. Während sich in manchen Gruppen relativ niedrige Raten an asymptomatischen Trägern fanden, konnte in anderen Gruppen *C. difficile* bei einer Vielzahl von Probanden nachgewiesen werden. Dies lässt den Schluss zu, dass *C. difficile* auch innerhalb dieser Gruppen von Proband zu Proband übertragen wurde und es somit nicht nur in Gesundheitseinrichtungen, sondern auch innerhalb der gesunden Bevölkerung zur Verbreitung von *C. difficile* kommen kann. In der Folge wurden Familienmitglieder von 22 positiven Trägern untersucht. Obgleich vereinzelt Familienmitglieder gefunden wurden, die *C. difficile* unbemerkt im Darm trugen, konnte auf keine erhöhte Transmissionsrate innerhalb der Familien um die primär untersuchten Probanden geschlossen werden. (Kato, Kita et al. 2001)

Die Studie von Kato et al. beschäftigte sich in erster Linie mit den asymptomatischen Trägern innerhalb der „gesunden“ Bevölkerung, wobei hier der prozentuelle Anteil der gesunden Träger (4,2%-15,3%) teilweise wesentlich höher liegt als der prozentuelle Anteil der asymptomatisch kolonisierten stationären Patienten (3%) an der Universitätsklinik für Innere Medizin in dieser Diplomarbeit. Es muss allerdings beachtet werden, dass die Anzahl der untersuchten Probanden in der Arbeit von Kato et al. wesentlich größer war (n=1234) als in dieser Arbeit.

Im Jahre 2004 wurden in einer Studie von Ozaki et al. 139 gesunde Erwachsene auf das Vorhandensein von *C. difficile* untersucht. Ausgewählt wurden Probanden, die weder an Durchfall litten, noch in den letzten 4 Wochen eine antimikrobielle Therapie erhalten hatten. Die Studienpopulation bestand aus 2 Gruppen, wovon 1 Gruppe aus Studenten bestand und die andere Gruppe aus Firmenangestellten. Die Probanden der Studentengruppe wurden dreimal, die der Angestelltengruppe wurden viermal hintereinander, jeweils in einem Abstand von 3 Monaten untersucht. Die Kolonisationsrate betrug zwischen 2,4% und 13%, wobei nicht zwischen toxinproduzierenden und nicht-toxinproduzierenden Stämmen unterschieden wurde. Weiters wurde die intestinale Mikroflora von 7 *C. difficile* positiven und 9 *C. difficile* negativen Probanden untersucht. Bei den *C. difficile* positiven Probanden fand sich eine höhere Dichte an Enterokokken, wobei der Grund für die erhöhte Besiedelung mit diesen Keimen und deren Rolle bei

Clostridien Trägern bisweilen nicht geklärt ist. (Ozaki, Kato et al. 2004) Die Anzahl der untersuchten Probanden in dieser Studie ist zwar gering (n=139), dennoch findet sich wieder eine relativ hohe Kolonisationsrate von 2,4% bis 13%. Wie auch in der vorangegangenen Studie wurden auch in dieser Arbeit das Auftreten von Durchfall oder die Einnahme von Antibiotika als Ausschlusskriterien gewertet. Ob die höhere Dichte an Enterokokken bei Patienten, die *C. difficile* unbemerkt im Darm tragen, eine Rolle bezüglich erhöhter Kolonisationsraten spielt, ist aufgrund der geringen Zahl der untersuchten Patienten, als nicht ausreichend geklärt einzustufen.

Angesichts der Hypothese, dass die Entwicklung einer CDAD eine vorangegangene Kolonisation mit *C. difficile* voraussetzt, stellt sich die Frage, ob Patienten, die *C. difficile* unbemerkt im Darm tragen, ein größeres Risiko haben, im Laufe oder nach einer antimikrobiellen Therapie eine CDAD zu entwickeln. Weiters ist nicht klar, ob Patienten, die nach der stationären Aufnahme in eine Gesundheitseinrichtung eine CDAD entwickeln, bereits vor der Aufnahme asymptomatisch kolonisiert waren, oder erst in der Gesundheitseinrichtung mit dem Keim in Berührung gekommen sind. Mittlerweile ist anzunehmen, dass Patienten, die asymptomatisch mit *C. difficile* kolonisiert sind, kein höheres Risiko haben, eine CDAD zu entwickeln. Untersuchungen zeigten, dass asymptomatische Träger ein niedrigeres Risiko haben, im Rahmen einer antibiotischen Therapie eine CDAD zu entwickeln.

In einer Studie von Shim et al. aus dem Jahre 1998 wurden Daten von 4 anderen Studien miteinander verglichen. Das Ziel dieser Studie war es, herauszufinden, ob Patienten, die bereits mit *C. difficile* kolonisiert sind, im Vergleich zu Patienten, die nicht kolonisiert sind, ein höheres Risiko haben, eine CDAD zu entwickeln. Die Ergebnisse zeigten, dass die symptomlose Kolonisation mit *C. difficile* mit einem niedrigerem Risiko verbunden ist, eine CDAD zu entwickeln. Hierbei spielt es keine Rolle, ob die Probanden mit einem toxinproduzierenden oder einem nicht-toxinproduzierenden Stamm kolonisiert sind. Auch im Rahmen einer antimikrobiellen Therapie haben asymptomatische Träger ein niedrigeres Risiko, eine CDAD zu entwickeln. Die Mechanismen für die protektive Wirkung der asymptomatischen Kolonisation mit *C. difficile* sind unklar. (Shim, Johnson et al. 1998)

Der klinische Verlauf einer Infektion mit *C. difficile* steht in engem Zusammenhang mit der individuellen Immunantwort. Bei asymptomatischen Carriern finden sich höhere

Serum Spiegel von IgG Antikörpern gegen das Toxin A als bei Patienten, die Symptome einer CDAD zeigen. Auch bei Patienten mit milden Symptomen finden sich höhere Serum IgG Spiegel gegen das Toxin A als bei Patienten mit einem schweren Krankheitsverläufen. (Kyne, Warny et al. 2000)

Es wird angenommen, dass 0 bis 3 % der amerikanischen und europäischen Bevölkerung mit *C. difficile* kolonisiert sind, jedoch keine Krankheitssymptome ausweisen. (Djuretic, Wall et al. 1999; Samore 1999; Bartlett 2002) Diese asymptomatischen Carrier sind jedoch sehr wohl in der Lage den Keim auf fäkooralem Weg auf andere gesunde Erwachsene zu übertragen, wobei es dann in der Folge zum Ausbruch einer CDAD kommen kann.

Studie (Autor, Jahr)	Kolonisationsrate bei asymptomatischen Patienten in der „gesunden Bevölkerung“
(Djuretic, Wall et al. 1999; Samore 1999; Bartlett 2002)	0 – 3%
(McFarland, Mulligan et al. 1989)	7%
(Kato, Kita et al. 2001)	4,2 – 15,3%
(Ozaki, Kato et al. 2004)	2,4 – 13%
(Kyne, Warny et al. 2000)	6,64%

Tabelle 19: Studien, die sich mit der Kolonisationsrate von *C. difficile* in der „gesunden“ Bevölkerung beschäftigen.

Bei hospitalisierten Patienten wird eine Kolonisationsrate von 15 bis 21 % (McFarland, Mulligan et al. 1989; McFarland 1995) angenommen. In diversen Arbeiten finden sich auch Kolonisationsraten von 20% bis 30% (Johnson and Gerding 1998) bei hospitalisierten Patienten. (siehe Tabelle 20)

Studie (Autor, Jahr)	Kolonisationsrate bei hospitalisierten asymptomatischen Patienten
(Kyne, Warny et al. 2000)	7%
(McFarland, Surawicz et al. 1990)	13%
(McFarland, Mulligan et al. 1989; McFarland 1995)	15-21%
(Johnson and Gerding 1998)	20-30%
(Viscidi, Willey et al. 1981)	21%
(Riggs, Sethi et al. 2007)	51% (Langzeitpflegeeinrichtung)
Diplomarbeit Krones Elisabeth: „Epidemiologie von <i>C. difficile</i> an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz“	3%
(Zollner-Schwetz, Högenauer et al. 2008)	0%

Tabelle 20: Studien, die sich mit der Kolonisationsrate bei hospitalisierten Patienten beschäftigen. In der Arbeit von Riggs, Sethi et al. wurden Patienten einer Langzeitpflegeeinrichtung untersucht. Die hohe Kolonisationsrate (51%) in dieser Studie erklärt sich in erster Linie durch Vorhandensein multipler Risikofaktoren (hohes Alter, schwere Grunderkrankung, häufige Antibiotikaeinnahme) bei Patienten in der Langzeitpflege.

Bereits im Jahre 1981 gab es eine Studie, die sich mit der Kolonisation verschiedener Patientenpopulationen mit *C. difficile* beschäftigte. Im Rahmen dieser Untersuchung wurden Stuhlproben von gesunden Erwachsenen, von gesunden Neugeborenen, von gesunden Kleinkindern im Alter von 4 bis 24 Monaten, von gesunden Erwachsenen unter antimikrobieller Therapie und von Patienten mit Symptomen einer Antibiotika assoziierten Diarrhoe gewonnen und mittels Zellkultur Zytotoxizitätstest und Stuhlkulturen auf das Vorliegen von *C. difficile* untersucht. Bei 60 untersuchten gesunden Erwachsenen fand sich bei keinem der Probanden der Keim, wohingegen bei 13 (29%) von insgesamt 45 gesunden Neugeborenen und bei 2 (9%) von 23 gesunden Kleinkindern *C. difficile* isoliert werden konnte. Bei den Erwachsenen, die zwar eine antimikrobielle Therapie erhalten hatten, jedoch keine gastrointestinalen Symptome zeigten, konnte *C. difficile* bei 12 (21%) von 56 Probanden im Stuhl nachgewiesen werden. Diese Probanden waren im Laufe der Untersuchung in Gesundheitseinrichtungen stationär. (Viscidi, Willey et al. 1981) In dieser Untersuchung fand sich zwar keine Kolonisation bei gesunden Erwachsenen, sehr wohl jedoch konnte *C. difficile* bei einem nicht unwesentlichen Teil von asymptomatischen

Patienten in Gesundheitseinrichtungen nachgewiesen werden. Es wurden keine Angaben darüber gemacht, ob es sich um toxinproduzierende oder nicht toxinproduzierende *C. difficile* Stämme handelte.

Welche Rolle kommt also den asymptomatischen Trägern in Gesundheitseinrichtungen zu? Hierbei handelt es sich um Patienten, die nicht als Träger von *C. difficile* identifiziert werden können, da sie keinerlei typische gastrointestinale Symptome zeigen. Somit werden diese Patienten auch nicht in Isolierzimmer verlegt, und sind eine potentielle Infektionsquelle für andere. Vermutlich sind es in erster Linie nicht nur die Patienten mit einer symptomatischen Clostridien Infektion, die eine Gefahr bei der Verbreitung von *C. difficile* darstellen. Den asymptomatischen Trägern von *C. difficile*, die zumeist unidentifiziert in Mehrbettzimmern liegen, kommt wahrscheinlich eine größere Rolle als Überträger und Mitverantwortliche für epidemische Krankheitsausbrüche zu, als bisweilen angenommen.

Clabots et al. zeigten, dass asymptomatische Träger, die neu in eine Gesundheitseinrichtung aufgenommen wurden, sehr wohl eine nicht unwesentliche Infektionsquelle für andere Patienten darstellen. (Clabots, Johnson et al. 1992)

In einer Studie von Riggs et al. aus dem Jahre 2007 wurde die Prävalenz von asymptomatischen Trägern epidemischer und nichtepidemischer Clostridien Stämme in Langzeitpflegeeinrichtungen untersucht. Es wurde angenommen, dass die Haut und die Umgebung asymptomatischer Träger vermehrt mit den Sporen des Keims kontaminiert sind. Weiters ging man davon aus, dass Stuhlinkontinenz, wie sie bei Patienten in Langzeitpflegeeinrichtungen vermehrt vorkommt, einen wesentlichen Faktor für die höhere Umgebungskontamination darstellt. Von den 73 untersuchten Patienten in 2 Langzeitpflegeeinrichtungen wurden 5 Patienten mit einer bereits vorbestehenden CDAD aus der Analyse ausgeschlossen. Von den 68 verbleibenden asymptomatischen Patienten wurden Stuhlproben und Umgebungsabstriche gewonnen. Weiters wurden Alter, Dauer des Aufenthalts in der Pflegeeinrichtung, Grunderkrankungen und die Medikation der Patienten erhoben. Ein besonderes Augenmerk wurde auf die Einnahme von Antibiotika und Protonenpumpeninhibitoren gelegt. 35 (51%) der 68 untersuchten Patienten konnten als asymptomatische Träger von toxinproduzierenden Stämmen identifiziert werden. Bei 12 der asymptomatischen Träger wurde nach 1 bis 3 Monaten abermals eine Stuhluntersuchung durchgeführt. Bei 10 (83%) von 12 Patienten konnte eine persistierende

Kolonisation gefunden werden. Bei den meisten asymptomatischen Trägern fanden sich bereits in der Vorgeschichte *C. difficile* assoziierte Erkrankungen sowie die Einnahme von Antibiotika innerhalb der letzten 3 Monate. Der epidemische NAP1 Stamm (Ribotyp 027) konnte bei 13 (37%) von 35 asymptomatischen Trägern isoliert werden. Weiters konnte eine wesentlich höhere Kontamination der Haut und der Umgebung von asymptomatischen Trägern, im Gegensatz zu nicht kolonisierten Patienten gefunden werden. Die höchste Umgebungskontamination fand sich bei Patienten mit einer floriden CDAD. Bei den asymptomatischen Trägern, die an Stuhlinkontinenz litten, konnte keine wesentlich höhere Haut- und Umgebungskontamination im Vergleich mit nicht inkontinenten Trägern nachgewiesen werden. Diese Studie zeigte, dass Patienten, die *C. difficile* unbemerkt im Darm tragen, sehr wohl eine nicht unwesentliche Rolle als Überträger in Gesundheitseinrichtungen spielen. Die hohe Kolonisationsrate in dieser Studienpopulation ist in erster Linie auf das Vorliegen zahlreicher Risikofaktoren, wie höheres Alter, Antibiotikagabe, Langzeitaufenthalt in Gesundheitseinrichtungen oder schwere Grunderkrankungen zurückzuführen. (Riggs, Sethi et al. 2007)

Nicht immer lassen sich die Clostridien Toxine bei asymptomatischen Trägern nachweisen, was in erster Linie darauf zurückzuführen ist, dass diese Träger entweder mit nicht toxinproduzierenden Stämmen kolonisiert sind, oder nur sehr kleine, oft nicht nachweisbare Toxinmengen produziert werden. (McCoubrey, Starr et al. 2003)

Die Rate an asymptomatischen Trägern von *C. difficile* an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz ist mit 3% deutlich niedriger als in vergleichbaren Studien, in denen Kolonisationsraten von 7% (Kyne, Warny et al. 2000) bis 51% (Riggs, Sethi et al. 2007) bei hospitalisierten Patienten nachgewiesen werden konnten. Die hohe Zahl an Trägern in der Studie von Riggs et al. lässt sich durch das untersuchte Patientenkollektiv erklären. Im Rahmen dieser Studie wurden Patienten einer Langzeitpflegeeinrichtung, bei denen sich eine Vielzahl an Risikofaktoren findet, untersucht. Der Großteil dieser Studien stammt aus dem angloamerikanischen Raum, was wiederum dem Schluss zulässt, dass es sowohl bei der Inzidenz von CDAD als auch bei der Rate an asymptomatischen Trägern in Gesundheitseinrichtungen sowie in der gesunden Bevölkerung signifikante regionale Unterschiede gibt.

Einer der Gründe für die niedrige Zahl an asymptomatischen Trägern von *C. difficile* an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz ist das bislang noch nicht epidemische Vorkommen des hochvirulenten Ribotyp O27 in Graz. Bislang gab es in Österreich nur vereinzelt nachgewiesene Fälle und ein epidemisches Auftreten dieses hochvirulenten Stammes in einem Krankenhaus in Wien. Zudem ist die Zahl an Clostridieninfektionen bzw. der prozentuelle Anteil der positiv getesteten an den insgesamt getesteten Stuhlproben in den Jahren 2000 bis 2008 relativ niedrig, was gegen ein epidemisches Vorkommen von *C. difficile* an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz spricht. Weiters lassen die Ergebnisse möglicherweise auf sehr gute Hygienemaßnahmen an der Universitätsklinik für Innere Medizin schließen.

Vergleicht man die Ergebnisse dieser Diplomarbeit mit anderen Studien, so ist die Dauer des Krankenhausaufenthalts der untersuchten Probanden zum Teil wesentlich kürzer. Weiters wurde im Rahmen dieser Untersuchung im Gegensatz zu vorangegangenen Studien von jedem Patienten nur eine Stuhlprobe getestet und keine weiteren Verlaufskontrollen durchgeführt. Vergleichbar mit anderen Arbeiten waren mitunter der hohe Anteil der Patienten mit einer Protonenpumpeninhibitor- und/oder Antibiotikatherapie. Das untersuchte Patientenkollektiv setzte sich wie auch in bisherigen Studien zum größten Teil aus älteren Patienten mit zum Teil schwerwiegenden Grunderkrankungen zusammen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sich sowohl die Anzahl der insgesamt auf *C. difficile* getesteten als auch die positiv getesteten Proben von Patienten der Universitätsklinik für Innere Medizin in den Jahren 2000 bis 2008 verdreifacht hat. Der prozentuelle Anteil der positiv getesteten Proben pro Jahr blieb hingegen weitgehend konstant und lag bei durchschnittlich 6%, was im Grunde gegen eine Zunahme von CDAD an der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz spricht. Nur etwa die Hälfte aller positiv auf *C. difficile* getesteten Proben wurde in den Jahren 2004 bis 2008 mit entsprechenden ICD-10 Diagnosen in den Patientenentlassungsdaten kodiert.

Zudem ist die Anzahl der asymptomatisch mit *C. difficile* kolonisierten Patienten der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz signifikant niedriger als in vergleichbaren Studien und liegt bei lediglich 7 (6%) von 214 Patienten.

5 Literaturverzeichnis

- Barbut, F., D. Decre, et al. (2005). "Clinical features of Clostridium difficile-associated diarrhoea due to binary toxin (actin-specific ADP-ribosyltransferase)-producing strains." J Med Microbiol **54**(Pt 2): 181-5.
- Barbut, F., M. Delmee, et al. (2003). "A European survey of diagnostic methods and testing protocols for Clostridium difficile." Clin Microbiol Infect **9**(10): 989-96.
- Barth, H., K. Aktories, et al. (2004). "Binary bacterial toxins: biochemistry, biology, and applications of common Clostridium and Bacillus proteins." Microbiol Mol Biol Rev **68**(3): 373-402, table of contents.
- Bartlett, J. G. (2002). "Clinical practice. Antibiotic-associated diarrhea." N Engl J Med **346**(5): 334-9.
- Bartlett, J. G. (2008). "Historical perspectives on studies of Clostridium difficile and C. difficile infection." Clin Infect Dis **46 Suppl 1**: S4-11.
- Bignardi, G. E. (1998). "Risk factors for Clostridium difficile infection." J Hosp Infect **40**(1): 1-15.
- Bolton, R. P., R. J. Sherriff, et al. (1980). "Clostridium difficile associated diarrhoea: a role in inflammatory bowel disease?" Lancet **1**(8165): 383-4.
- Ciarán P. Kelly, M. D., and J. Thomas LaMont, M.D. (2008). "Clostridium difficile - More Difficult Than Ever." N Engl J Med.
- Clabots, C. R., S. Johnson, et al. (1992). "Acquisition of Clostridium difficile by hospitalized patients: evidence for colonized new admissions as a source of infection." J Infect Dis **166**(3): 561-7.
- Dial, S., J. A. Delaney, et al. (2005). "Use of gastric acid-suppressive agents and the risk of community-acquired Clostridium difficile-associated disease." Jama **294**(23): 2989-95.
- Djuretic, T., P. G. Wall, et al. (1999). "Clostridium difficile: an update on its epidemiology and role in hospital outbreaks in England and Wales." J Hosp Infect **41**(3): 213-8.
- Eglow, R., C. Pothoulakis, et al. (1992). "Diminished Clostridium difficile toxin A sensitivity in newborn rabbit ileum is associated with decreased toxin A receptor." J Clin Invest **90**(3): 822-9.
- Finney, J. (1893). "Gastro-enterostomy for cicatrizing ulcer of the pylorus." Bull Johns Hopkins Hosp **4**(53).
- Gerding, D. N., C. A. Muto, et al. (2008). "Treatment of Clostridium difficile infection." Clin Infect Dis **46 Suppl 1**: S32-42.
- Högenauer, a. o. U. P. D. C. (2005). "Antibiotika-assozierte Diarrhö - Floras Rache." universum Innere Medizin(02).
- Högenauer, C., C. Langner, et al. (2006). "Klebsiella oxytoca as a causative organism of antibiotic-associated hemorrhagic colitis." N Engl J Med **355**(23): 2418-26.
- Hurley, B. W. and C. C. Nguyen (2002). "The spectrum of pseudomembranous enterocolitis and antibiotic-associated diarrhea." Arch Intern Med **162**(19): 2177-84.
- Indra, A., S. Huhulescu, et al. (2006). "First isolation of Clostridium difficile PCR ribotype 027 in Austria." Euro Surveill **11**(9): E060914 3.
- Johnson, S., C. R. Clabots, et al. (1990). "Nosocomial Clostridium difficile colonisation and disease." Lancet **336**(8707): 97-100.
- Johnson, S. and D. N. Gerding (1998). "Clostridium difficile--associated diarrhea." Clin Infect Dis **26**(5): 1027-34; quiz 1035-6.
- Just, I. and R. Gerhard (2004). "Large clostridial cytotoxins." Rev Physiol Biochem Pharmacol **152**: 23-47.

- Kato, H., Y. Ito, et al. (2007). "First isolation of *Clostridium difficile* 027 in Japan." Euro Surveill **12**(1): E070111 3.
- Kato, H., H. Kita, et al. (2001). "Colonisation and transmission of *Clostridium difficile* in healthy individuals examined by PCR ribotyping and pulsed-field gel electrophoresis." J Med Microbiol **50**(8): 720-7.
- Kelly, C. P. and J. T. LaMont (1998). "*Clostridium difficile* infection." Annu Rev Med **49**: 375-90.
- Kelly CP, L. J. (1993). Treatment of *Clostridium difficile* diarrhea and colitis. In Wolfe MM (ed). Gastrointestinal Pharmacotherapy. W. Saunders. Philadelphia: p 199.
- Kuijper, E. J., B. Coignard, et al. (2007). "Update of *Clostridium difficile*-associated disease due to PCR ribotype 027 in Europe." Euro Surveill **12**(6): E1-2.
- Kyne, L., R. J. Farrell, et al. (2001). "*Clostridium difficile*." Gastroenterol Clin North Am **30**(3): 753-77, ix-x.
- Kyne, L., M. Warny, et al. (2000). "Asymptomatic carriage of *Clostridium difficile* and serum levels of IgG antibody against toxin A." N Engl J Med **342**(6): 390-7.
- Larson, H. E., F. E. Barclay, et al. (1982). "Epidemiology of *Clostridium difficile* in infants." J Infect Dis **146**(6): 727-33.
- Lyerly, D. M., H. C. Krivan, et al. (1988). "*Clostridium difficile*: its disease and toxins." Clin Microbiol Rev **1**(1): 1-18.
- Maroo, S. and J. T. Lamont (2006). "Recurrent *clostridium difficile*." Gastroenterology **130**(4): 1311-6.
- McCoubrey, J., J. Starr, et al. (2003). "*Clostridium difficile* in a geriatric unit: a prospective epidemiological study employing a novel S-layer typing method." J Med Microbiol **52**(Pt 7): 573-8.
- McDonald, L. C., G. E. Killgore, et al. (2005). "An epidemic, toxin gene-variant strain of *Clostridium difficile*." N Engl J Med **353**(23): 2433-41.
- McDonald, L. C., M. Owings, et al. (2006). "*Clostridium difficile* infection in patients discharged from US short-stay hospitals, 1996-2003." Emerg Infect Dis **12**(3): 409-15.
- McEllistrem, M. C., R. J. Carman, et al. (2005). "A hospital outbreak of *Clostridium difficile* disease associated with isolates carrying binary toxin genes." Clin Infect Dis **40**(2): 265-72.
- McFarland, L. V. (1995). "Epidemiology of infectious and iatrogenic nosocomial diarrhea in a cohort of general medicine patients." Am J Infect Control **23**(5): 295-305.
- McFarland, L. V. (2008). "Update on the changing epidemiology of *Clostridium difficile*-associated disease." Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol **5**(1): 40-8.
- McFarland, L. V., H. W. Beneda, et al. (2007). "Implications of the changing face of *Clostridium difficile* disease for health care practitioners." Am J Infect Control **35**(4): 237-53.
- McFarland, L. V., M. E. Mulligan, et al. (1989). "Nosocomial acquisition of *Clostridium difficile* infection." N Engl J Med **320**(4): 204-10.
- McFarland, L. V., C. M. Surawicz, et al. (1994). "A randomized placebo-controlled trial of *Saccharomyces boulardii* in combination with standard antibiotics for *Clostridium difficile* disease." Jama **271**(24): 1913-8.
- McFarland, L. V., C. M. Surawicz, et al. (1990). "Risk factors for *Clostridium difficile* carriage and *C. difficile*-associated diarrhea in a cohort of hospitalized patients." J Infect Dis **162**(3): 678-84.
- McPherson, S., C. J. Rees, et al. (2006). "Intravenous immunoglobulin for the treatment of severe, refractory, and recurrent *Clostridium difficile* diarrhea." Dis Colon Rectum **49**(5): 640-5.

- Mermel, L. A. and T. G. Osborn (1989). "Clostridium difficile associated reactive arthritis in an HLA-B27 positive female: report and literature review." J Rheumatol **16**(1): 133-5.
- Owens, R. C., Jr., C. J. Donskey, et al. (2008). "Antimicrobial-associated risk factors for Clostridium difficile infection." Clin Infect Dis **46 Suppl 1**: S19-31.
- Ozaki, E., H. Kato, et al. (2004). "Clostridium difficile colonization in healthy adults: transient colonization and correlation with enterococcal colonization." J Med Microbiol **53**(Pt 2): 167-72.
- Patrick R. Murray, E. J. B., James H. Jorgensen, Marie Louise Landry, Michesl A. Pfaller (2007). Manual of Clinical Microbiology, ASM Press Washington DC.
- Pepin, J., S. Routhier, et al. (2006). "Management and outcomes of a first recurrence of Clostridium difficile-associated disease in Quebec, Canada." Clin Infect Dis **42**(6): 758-64.
- Pepin, J., N. Saheb, et al. (2005). "Emergence of fluoroquinolones as the predominant risk factor for Clostridium difficile-associated diarrhea: a cohort study during an epidemic in Quebec." Clin Infect Dis **41**(9): 1254-60.
- Pepin, J., L. Valiquette, et al. (2004). "Clostridium difficile-associated diarrhea in a region of Quebec from 1991 to 2003: a changing pattern of disease severity." Cmaj **171**(5): 466-72.
- Putterman, C. and A. Rubinow (1993). "Reactive arthritis associated with Clostridium difficile pseudomembranous colitis." Semin Arthritis Rheum **22**(6): 420-6.
- Reisinger, E. C., M. Lademann, et al. (2004). "[Antibiotic-associated diarrhea]." Dtsch Med Wochenschr **129 Suppl 2**: S111-3.
- Riggs, M. M., A. K. Sethi, et al. (2007). "Asymptomatic carriers are a potential source for transmission of epidemic and nonepidemic Clostridium difficile strains among long-term care facility residents." Clin Infect Dis **45**(8): 992-8.
- RKI (2007). "Clostridium difficile Ribotyp O27: Bestätigte schwere Infektionen in Deutschland." Epidemiologisches Bulletin(46).
- Rupnik, M., V. Avesani, et al. (1998). "A novel toxinotyping scheme and correlation of toxinotypes with serogroups of Clostridium difficile isolates." J Clin Microbiol **36**(8): 2240-7.
- Samore, M. H. (1999). "Epidemiology of nosocomial clostridium difficile diarrhoea." J Hosp Infect **43 Suppl**: S183-90.
- Samore, M. H., L. Venkataraman, et al. (1996). "Clinical and molecular epidemiology of sporadic and clustered cases of nosocomial Clostridium difficile diarrhea." Am J Med **100**(1): 32-40.
- Shim, J. K., S. Johnson, et al. (1998). "Primary symptomless colonisation by Clostridium difficile and decreased risk of subsequent diarrhoea." Lancet **351**(9103): 633-6.
- Smith, A. (2005). "Outbreak of Clostridium difficile infection in an English hospital linked to hypotoxin-producing strains in Canada and the US." Euro Surveill **10**(6): E050630 2.
- Surawicz, C. M. (2004). "Treatment of recurrent Clostridium difficile-associated disease." Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol **1**(1): 32-8.
- Surawicz, C. M. (2007). "Emergency colectomy in severe Clostridium difficile-associated disease: the sooner the better for some." Gastroenterology **133**(2): 718-20.
- Tedesco, F. J., R. W. Barton, et al. (1974). "Clindamycin-associated colitis. A prospective study." Ann Intern Med **81**(4): 429-33.
- Viscidi, R., S. Willey, et al. (1981). "Isolation rates and toxigenic potential of Clostridium difficile isolates from various patient populations." Gastroenterology **81**(1): 5-9.
- Widmer A, P. D. (1995). C. difficile - Epidemiologie und präventive Maßnahmen, SWISS-NOSO, Band 2 Nummer 3.

Wilson, K. H. and R. Freter (1986). "Interaction of *Clostridium difficile* and *Escherichia coli* with microfloras in continuous-flow cultures and gnotobiotic mice." Infect Immun **54**(2): 354-8.

Zollner-Schwetz, I., C. Högenauer, et al. (2008). "Role of *Klebsiella oxytoca* in antibiotic-associated diarrhea." Clin Infect Dis **47**(9): e74-8.

Lebenslauf

Name	Elisabeth Krones	
Geburtsdatum	24.12.1984	
Geburtsort	Weiz	
Staatsbürgerschaft	österreichische	
Familienstand	ledig	
Religionsbekenntnis	römisch-katholisch	
Schulbildung	Volksschule Mortantsch	1991 - 1995
	BG/BRG Weiz	1995 - 2003
	Reifeprüfung mit gutem Erfolg	18.6.2003
Studium der Humanmedizin an der Medizinischen Universität Graz	1. Studienabschnitt	1.10.2003 – 2.7.2004
	2. Studienabschnitt	1.10.2004 – 11.6.2008
	3. Studienabschnitt	1.10.2008 – 26.6.2009
Famulaturen/Praktika	LKH Weiz Chirurgische Abteilung	2.2.2004 – 13.2.2004
	LKH Weiz Chirurgische Abteilung	1.8.2005 – 26.8.2005
	LKH Weiz Chirurgische Abteilung	3.7.2006 – 28.7.2006
	LKH Weiz Chirurgische Abteilung	5.2.2007 – 16.2.2007
	LKH Weiz Abteilung für Innere Medizin	2.4.2007 – 13.4.2007
	LKH Weiz Abteilung für Innere Medizin	4.2.2008 – 29.2.2008
	Institut für Computertomographie Dr. Manfred Thalhammer/Dr. Robert Zöhrer, 8160 Weiz	8.2.2006 – 17.2.2006
	Dr. Georg Kurtz, Arzt für Allgemeinmedizin, 8200 Gleisdorf	18.8.2008 – 29.8.2008
	Dr. Georg Kurtz, Arzt für Allgemeinmedizin, 8200 Gleisdorf	15.12.2008 – 28.1.2009
	Universitätsklinik für Innere Medizin Graz, Abteilung für Gastroenterologie und Hepatologie	1.10.2008 – 11.12.2008
	Universitätsklinik für Kinderheilkunde, Abteilung für Allgemeine Pädiatrie	2.3.2009 – 3.4.2009
	Universitätsklinik für Chirurgie, Abteilung für Allgemein Chirurgie	20.4.2009 – 24.6.2009
Zusatzqualifikationen	Cambridge First Certificate Cambridge Advanced Certificate	
Stipendien	Leistungsstipendium der Medizinischen Universität Graz für den 2. Studienabschnitt	

