

Diplomarbeit

Einfluss von Antibiotika-Einnahme auf
Marker der Inflammation im Stuhl

eingereicht von

Michael Thaler

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt am

Universitätsklinikum für Innere Medizin

an der

Klinischen Abteilung für Gastroenterologie und Hepatologie

unter der Anleitung der Betreuer

Ao. Univ. Prof. Dr. med. univ. Christoph Högenauer

Univ. FA. Dr. med. univ. Lukas Binder

Graz, Datum 18.02.2024

Eidesstattliche Erklärung

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

Graz, am 18.02.2024

Michael Thaler eh.

Danksagungen

An dieser Stelle möchte ich mich bei all jenen sehr herzlich bedanken, die mich bei der Erstellung dieser Arbeit unterstützt haben.

Besonderer Dank gebührt meinen Betreuern Herr Ao. Univ. Prof. Dr. med. univ. Christoph Högenauer und Herr Univ. FA. Dr. med. univ. Lukas Binder. Vielen Dank für die intensive und engmaschige Betreuung, sowie die konstruktiven Rückmeldungen zu meinen Entwürfen.

Ein großer Dank gilt auch meiner Freundin, die mir durchs Studium hindurch stets motivierend und hilfsbereit zur Seite stand.

Zuletzt ein großer Dank an meine Eltern, die mich in meinen Vorhaben immer unterstützten, an mich glaubten und mir in allen Belangen Beistand leisteten.

Zusammenfassung

Einleitung. Die Antibiotika-assoziierte Diarrhoe (AAD) ist eine Erkrankung, die im klinischen Alltag häufig zu finden ist. Die Pathomechanismen dafür sind vielfältig und es bedarf weiterer Forschungsarbeit, diese endgültig zu klären. Mit dieser Diplomarbeit soll ein Beitrag zum besseren Verständnis der AAD geleistet werden.

In der Einleitung finden sich Begriffsdefinitionen und theoretische Grundlagen zum Thema Antibiotika und Diarrhoe, außerdem werden Grundlagen sowie mögliche Einsatzgebiete von Entzündungsmarkern im Stuhl dargestellt.

Material und Methoden. Zur Beantwortung der Forschungsfragen „*Welche Rolle spielt die fäkale Calprotectinbestimmung bei der Antibiotika-assoziierten Diarrhoe (AAD)?*“ und „*Welche Rolle spielt die fäkale Calprotectinbestimmung nach Antibiotikaeinnahme ohne Diarrhoe?*“ wurde eine systematische Literaturrecherche mithilfe der Meta-Plattform „Pubmed“ durchgeführt. Letztlich wurden 21 passende Untersuchungen gefunden, welche in neun Kategorien unterteilt, für die Beantwortung der Forschungsfragen herangezogen werden konnten.

Ergebnisse. Die Studien zeigen, dass die fäkale Calprotectinmessung bei der Differenzierung zwischen Clostridioides difficile Infektionen (CDI) und non-CDI AAD, sowie bei der Differenzierung zu anderen Ursachen einer Diarrhoe hilfreich sein kann. Der fäkale Calprotectinwert weist einen Zusammenhang zu auftretenden Komplikationen bei CDI und dem CDI-Schweregrad auf. Eingeschränkt kann der Wert herangezogen werden, wenn es um die Differenzierung von manifester CDI und asymptomatischer Clostridioides difficile (C. diff.) Kolonisation, C. diff. mit oder ohne Toxinproduktion, Prognose von CDI-Rückfällen und dem messbaren Therapieerfolg geht. Die Rolle des fäkalen Calprotectinwertes zur Vorhersagekraft für späteres Therapieansprechen ist fraglich. Ein Zusammenhang von hohen Werten und CDI-bezogenen Todesfällen besteht nicht. Zur Aussagekraft von fäkalen Calprotectinwerten bei Patient*innen nach Antibiotikaeinnahme ohne Diarrhoe finden sich keine Studienergebnisse.

Schlussfolgerung. Fäkale Calprotectinmessungen zeigen für einige Fragestellungen eine hohe Aussagekraft. Bei anderen Fragestellungen zeigt sich hingegen bis jetzt kein eindeutiger Nutzen der Messung. Insgesamt sind weitere prospektive Studien mit großer Teilnehmerzahl notwendig, um die Calprotectin-Bestimmung auch in anderen klinischen Situationen zu etablieren. Auch, ob die Antibiotika-Einnahme an sich bereits zu einer Erhöhung des fäkalen Calprotectinwertes führt, ist bisher nicht erforscht.

Abstract

Introduction. Antibiotic-associated diarrhea (AAD) is a disease that is frequently seen in daily clinical practice. The pathomechanisms for AAD are complex and further research is needed to clarify them definitively. The aim of this thesis is to contribute to a better understanding of AAD.

The introduction contains definitions of terms and theoretical principles on the subject of antibiotics and diarrhoea, as well as the basics and possible indications of inflammatory markers in faeces.

Material and methods. To answer the research questions "*What role does faecal calprotectin determination play in antibiotic-associated diarrhoea (AAD)?*" and "*What role does faecal calprotectin determination play after antibiotic intake without diarrhoea?*", a systematic literature review was conducted using the meta-platform "Pubmed". Finally, 21 suitable studies were found, which were divided into nine categories and used to answer the research questions.

Results. The studies show that faecal calprotectin measurement can be used to differentiate between *Clostridioides difficile* infections (CDI) and non-CDI AAD, as well as to differentiate between other causes of diarrhea. The faecal calprotectin value shows a correlation with the complications occurring with CDI and the CDI severity. The value cannot be used without restriction to differentiate between manifest CDI and asymptomatic *Clostridioides difficile* (CDI) colonisation, *C. diff.* with or without toxin production, prognosis of CDI relapses and the measurable success of therapy, even if there are strong tendencies for significance. The role of faecal calprotectin levels in predicting subsequent treatment response is questionable. There is no correlation between high values and CDI-related deaths. There are no study results on the significance of faecal calprotectin values in patients who have taken antibiotics without diarrhoea.

Conclusion. Faecal calprotectin measurements are highly informative for some questions. For other questions, however, the measurement has not yet shown any clear benefit. Overall, further prospective studies with a large number of participants are necessary in order to establish calprotectin measurement in other clinical situations. Research has also not yet been conducted into whether taking antibiotics in itself leads to an increase in faecal calprotectin levels.

Inhalt

Danksagungen	II
Zusammenfassung	III
Abstract	IV
Inhalt	V
Abkürzungen und deren Erklärung	VII
Abbildungsverzeichnis	VIII
Tabellenverzeichnis	IX
1 Einleitung	1
1.1 Antibiotika und Diarrhoe	1
1.1.1 Von der Antibiotika-assoziierten Diarrhoe bis zur pseudomembranösen Colitis	
1	
1.1.1.1 Begriffsdefinition	1
1.1.1.2 Epidemiologie.....	2
1.1.1.3 Ätiologie	3
1.1.1.3.1 Infektiöse Mechanismen.....	3
1.1.1.3.2 Nicht-infektiöse Mechanismen.....	4
1.1.1.4 Klinik.....	6
1.1.1.5 Diagnostik.....	7
1.1.1.6 Therapie	9
1.1.1.7 Prognose	10
1.2 Entzündungsmarker im Stuhl	11
1.2.1 Calprotectin	11
1.2.1.1 Definition Calprotectin	11
1.2.1.2 Entstehung	11
1.2.1.3 Biochemische Grundlagen.....	12
1.2.1.4 Wirkung des Calprotectins	12
1.2.1.5 Bestimmung/Messung	13
1.2.1.6 Beeinflussung des Messwertes	16
1.2.2 Laktoferrin	19
1.2.3 Andere inflammatorische Stuhlmarker.....	22
1.2.4 Klinische Rolle bei Darmerkrankungen neben der AAD	23
1.2.4.1 Colitis Ulcerosa und Morbus Crohn.....	23
1.2.4.2 Funktionelle Darmbeschwerden vs. chronisch entzündliche	
Darmerkrankungen	25
1.2.4.3 Mikroskopische Colitis.....	25
1.2.4.4 Infektiöse Durchfallerkrankungen.....	26
1.2.4.5 Kolorektales Karzinom.....	27
1.2.4.6 SARS-CoV-2.....	28
2 Material und Methoden	29
3 Ergebnisse	31
3.1 Calprotectin bei CDI vs. non-CDI AAD und non-CDI Diarrhoe	33
3.2 Calprotectin bei CDI vs. C. diff.-Kolonisation	34
3.3 Calprotectin und Korrelation zu Komplikationen bei CDI	35
3.4 Calprotectin und CDI-Schweregrade	36
3.5 Calprotectin bei Toxin pos. vs. Toxin neg. CDI	38
3.6 Calprotectin und Therapieansprechen bei CDI	38
3.7 Calprotectin bei CDI-Rückfällen	39

3.8	Calprotectin und Todesfälle bei CDI	40
4	Diskussion.....	41
	Literaturverzeichnis	46

Abkürzungen und deren Erklärung

AAC – Antibiotika-assoziierte Colitis

AAD – Antibiotika-assoziierte Diarrhoe

AUC – area under the curve

C. diff.-Kolonisation – Clostridioides difficile-Kolonisation

CDAC – Clostridioides difficile-assoziierte Colitis

CDAD – Clostridioides difficile-assoziierte Diarrhoe

CDI – Clostridioides difficile Infektion

CED – chronisch entzündliche Darmerkrankungen

CLIA – Chemolumineszenzimmunoassay

ECCO – European Crohn's and Colitis Organisation

EIA – Enzymimmunoassay

ELISA – Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

ESCMID – european society of microbiology and infectious disease

FEIA – Fluoreszenz-Enzym-Immunoassay

FMT – fecal microbiota transplantation

GDH – Glutamatdehydrogenase

GMCs – giant migrating contractions

IQR – interquartile range

NAAT – nucleic acid amplification technique

PCR – polymerase chain reaction

PMC – Pseudomembranöse Colitis

PPI – Protonenpumpen Inhibitor

RGCs – retrograde giant contractions

ROC-Kurve – receiver-operating-characteristics – Kurve

SCFA – short chain fatty acids

Staph. Aureus – Staphylococcus aureus

TC – toxigenic culture

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Vorgehensweise bei der Literatursuche (eigene Darstellung).....	30
--	----

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Therapie CDI (adaptiert nach van Prehn et al.[8])	10
Tabelle 2: verfügbare fäkale Calprotectin Tests zur (adaptiert nach Ayling et al. [37]).....	14
Tabelle 3: Faktoren fäkale Calprotectinerhöhung (adaptiert nach D'Amico et al. [65]).....	19
Tabelle 4: Studienübersicht (eigene Darstellung)	33
Tabelle 5: Calprotectin bei CDI vs. non-CDI AAD (eigene Darstellung)	33
Tabelle 6: Calprotectin bei CDI vs. non-CDI Diarrhoe (eigene Darstellung).....	34
Tabelle 7: Calprotectin bei CDI vs. C. diff.-Kolonisation (eigene Darstellung).....	35
Tabelle 8: Calprotectin und Korrel. zu Komplikationen bei CDI (eigene Darstellung).....	35
Tabelle 9: Calprotectin und CDI-Schweregrade (eigene Darstellung).....	37
Tabelle 10: Calprotectin bei Toxin pos. vs. Toxin neg. CDI (eigene Darstellung).....	38
Tabelle 11: Calprotectin und Therapieansprechen bei CDI (eigene Darstellung).....	39
Tabelle 12: Calprotectin bei CDI-Rückfällen (eigene Darstellung).....	40
Tabelle 13: Calprotectin und Todesfälle bei CDI (eigene Darstellung).....	40

1 Einleitung

Die Antibiotika-assoziierte Diarrhoe (AAD) ist eine Erkrankung, die im klinischen Alltag häufig zu finden ist. Die Pathomechanismen dafür sind vielfältig und es bedarf weiterer Forschungsarbeit diese endgültig zu klären. Mit dieser Diplomarbeit soll ein Beitrag zum besseren Verständnis der AAD geleistet werden.

Es ist wesentlich, einen Überblick über diese Erkrankung und über bereits bekannte wissenschaftlich Ergebnisse zu erlangen. In den nächsten Seiten soll ein allgemeiner Überblick in den Kapiteln „1.1 Antibiotika und Diarrhoe“ und „1.2 Entzündungsmarker im Stuhl“ verschafft werden und die Relevanz und Wichtigkeit des Verständnisses der AAD im klinischen Alltag unterstrichen werden.

Im Rahmen dieser Diplomarbeit wird ein systematischer Literaturreview durchgeführt, um folgende Forschungsfragen zu beantworten:

Welche Rolle spielt die fäkale Calprotectinbestimmung bei der AAD?

Welche Rolle spielt die fäkale Calprotectinbestimmung nach Antibiotikaeinnahme ohne Diarrhoe?

1.1 Antibiotika und Diarrhoe

1.1.1 Von der Antibiotika-assoziierten Diarrhoe bis zur pseudomembranösen Colitis

1.1.1.1 Begriffsdefinition

Kommt es zu drei oder mehr ungeformten Stühlen täglich oder zur Ausscheidung einer ungeformte Stuhlmenge von über 250g pro Tag, kann man im Allgemeinen von einer Diarrhoe sprechen [1]. Unter AAD versteht man Diarrhoe, die zwischen 2 Stunden und 2 Monaten nach Start einer Antibiotikagabe beginnt. Außerdem muss für die AAD eine andere Erklärung fehlen [2]. Das Spektrum einer AAD kann von einer wässrigen Diarrhoe ohne Komplikationen bis zu einer Colitis einschließlich möglicher damit einhergehender Komplikationen reichen [3]. Von einer Colitis spricht man im Allgemeinen bei einer Colontzündung, welche unterschiedliche Ursachen haben kann [4]. Es können Symptome wie abdominelle Schmerzen, Fieber und Diarrhoen, welche sich schleimig oder blutig präsentieren können, mit einer Colitis einhergehen [5]. Die Antibiotika-assoziierte Colitis (AAC) zeigt systemische Entzündungszeichen, fäkale Leukozytose und charakteristische Veränderungen in der Schnittbildgebung und der Endoskopie [3]. Eine Clostridioides

Difficile-assoziierte Colitis (CDAC), eine Unterform der AAC, wird durch eine Clostridioides difficile Infektion (CDI) hervorgerufen. Es zeigen sich hierbei eine typische Klinik wie anhaltende wässrige Diarrhoen oder Blutbeimengungen, sowie in manchen Fällen Fieber, sowie systemische Entzündungszeichen wie eine Leukozytose. Die Pseudomembranöse Colitis (PMC), die schwerste Ausprägungsform einer CDAC ist eine endoskopisch gestellte Diagnose [6]. Auch die Antibiotika-assoziierte hämorrhagische Colitis (AAHC) ist eine Unterform der AAC. Es fehlt hierbei der Nachweis einer CDI, denn diese Form der AAC wird durch Klebsiella oxytoca ausgelöst [7].

Eine schwere CDI wird entsprechend der Europäischen Gesellschaft für klinische Mikrobiologie und Infektionskrankheiten (ESCMID: european society of microbiology and infectious disease) gekennzeichnet durch Fieber $> 38,5^{\circ}\text{C}$, Leukozyten im Serum $> 15 \times 10^9/\text{L}$, Serumkreatininanstieg $>50\%$ von der Baseline und zusätzliche bestätigende Befunde wie etwa eine Colonwand-Verdickung in der Bildgebung, definiert [8].

Die ESCMID definiert ein CDI-Rezidiv als Wiederauftreten der Erkrankung innerhalb 8 Wochen nach abklingen einer ersten Episode. Die Symptome der ersten Episode müssen nach Abschluss der Erstbehandlung allerdings abgeklungen sein [8].

1.1.1.2 Epidemiologie

Laut Untersuchungen erkranken bis zu 25% der Personen, welche zuvor Antibiotika eingenommen haben, an einer AAD. Dies ist in Abhängigkeit der verabreichten Antibiotikagruppe zu beurteilen. [9, 10]. Andere Autoren sprechen sogar von einer Inzidenz der AAD bis zu 35% unter den Personen, welche Antibiotika eingenommen haben [11].

Die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten einer AAD nach Antibiotikaeinnahme dürfte sich zwischen Antibiotikagruppen unterscheiden. So sind etwa 10% - 25% der Patient*innen nach der Einnahme von Amoxicillin/Clavulansäure von einer AAD betroffen. Seltener ist das Auftreten von AAD bei nach der Einnahme anderer Antibiotikagruppen, so sind etwa 10% - 20% nach der Einnahme des Cephalosporins Cefixim, 5% - 10% nach der Einnahme von Ampicillin und 2% - 5% nach der Einnahme anderen Antibiotika wie anderen Cephalosporinen, Fluorchinolon, Azithromylin, Clarythromycin, Erythromycin und Tetracyclin von AAD betroffen [3]. Eine Untersuchung fand außerdem heraus, dass kein Unterschied zwischen parenteraler und oraler Gabe besteht [12].

Die durch Klebsiella oxytoca hervorgerufene AAHC tritt am häufigsten nach Einnahme von Penicillin-Derivaten auf [7].

Die CDI, welche einen großen Teil der Antibiotika-assoziierten Colitiden verursacht, kommt laut Erhebungen aus dem Jahr 2012 auf eine Fallzahl von 65.000 Neuerkrankungen in Deutschland pro Jahr. Die Autoren vermuten, dass die eigentlichen Zahlen höher sind, da es sich bei vorher genannter Zahl lediglich um jene Patient*innen handelt, welche mittels CDI-spezifischer Therapie behandelt wurden [13]. Außerdem war *C. diff.* zwischen 2016 und 2017 der sechst-häufigste Erreger, welcher für nosokomiale Infektionen verantwortlich war [14].

Dass das Auftreten von Rezidiven nach einer CDI-Episode nicht unterschätzt werden darf, zeigen Lübbert et al. mit den Zahlen aus Deutschland. Bei ihrer Erhebung fanden sie heraus, dass rund 18% der Patient*innen nach einer ersten CDI-Episode an einem Rezidiv litten. Davon erlitten rund 28% ein zweites Rezidiv und wiederum davon erlitten rund 30% ein drittes Rezidiv [13].

Die Hauptrisikofaktoren für eine CDI sind Alter, Hospitalisation, Bewohnen von Altersheimen, sowie die Antibiotikaeinnahme [3, 15].

1.1.1.3 Ätiologie

Es muss zwischen der Entstehung einer AAD und einer AAC unterschieden werden.

Grob lassen sich 2 Gruppen unterscheiden: Infektiöse und nicht-infektiöse Mechanismen für die Entstehung einer AAD.

Unter infektiösen Ursachen fassten Silverman et al. *Clostridioides difficile*, *Klebsiella oxytoca*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium Perfringens* und *Salmonella species* zusammen [16].

Unter den nicht infektiösen Mechanismen können mikrobielle Dysbalancen im GI-Trakt, wie die Reduktion des mikrobiellen Metabolismus, sowie der Verlust der mikrobiellen Widerstandsfähigkeit gegenüber pathologischen Erregern verstanden werden. Außerdem wird eine direkte positive Wirkung auf die Darmmotilität berichtet [17].

1.1.1.3.1 Infektiöse Mechanismen

Clostridioides difficile. *Clostridioides difficile* ist ein obligat anaerobes und sporenbildendes Bakterium. Die Virulenz des Bakteriums entsteht durch die Toxine TcdA und TcdB verursacht, welche etwa einen Zelluntergang von Enterozyten, einen Verlust der intestinalen Barrierefunktion oder eine neutrophile Colitis verursachen. Der Großteil der Fälle von *Clostridioides difficile*-assoziiierter Diarrhoe (CDAD) tritt nach Antibiotikaeinnahme und im Krankenhaus-Setting beziehungsweise kurz nach der

Entlassung oder in Pflegeheimen auf. Nur selten kommt es zur CDAC ohne vorherige Antibiotikaeinnahme [18].

Eine große rezente Metaanalyse mit über 5000 Patient*innen konnte zeigen, dass *Clostridioides difficile* lediglich in etwa 20% der Fälle für die AAD verantwortlich ist [17]. **Klebsiella oxytoca.** Högenauer et al. konnten außerdem zeigen, dass *Klebsiella oxytoca* ebenfalls zu einer AAD, im Speziellen zu einer AAHC, führen kann. In Europa wird von einer asymptomatischen Besiedelung von Toxin-produzierenden *Klebsiella oxytoca* von etwa 2-9% der Gesamtbevölkerung gesprochen [7]. *Klebsiella*-Stämme sind gegen Penicilline von Natur aus resistent, weshalb es zur Überwucherung dieses Bakteriums bei entsprechender antibiotischer Therapie kommt. Der Schaden, welcher bei der AAHC entsteht, wird durch die Toxine Tilimycin und Tilivaline ausgelöst. Diese verursachen schwere Gewebeschäden [19].

Andere Hypothesen für die Entstehung einer AAD sind eine Infektion mit *Clostridium perfringens*. Borriello et al. konnten bei elf Patient*innen mit AAD *Clostridium perfringens* und dessen Enterotoxin detektieren. Bei zwei der elf Patient*innen wurde allerdings darüber hinaus *C. diff.* nachgewiesen. [20].

Weitere infektiöse Ursachen. Diese könnten Infektionen mit multiresistentem *Staph. aureus*, resistenten *Salmonella species* oder eine AAHC durch *K. oxytoca* ausgelöst, welche nach Penicillin-Einnahme auftreten kann, sein. Diese Ursachen werden kontrovers diskutiert [9].

1.1.1.3.2 Nicht-infektiöse Mechanismen

Reduktion des mikrobiellen Metabolismus:

Kurzkettige Fettsäuren. Bakterien im Dickdarm verstoffwechseln Kohlenhydrate zu kurzkettige Fettsäuren (SCFA; short chain fatty acids) und Laktat [21]. Diese SCFA werden absorbiert und mit ihnen werden Flüssigkeit und Elektrolyte aufgenommen [22]. Mehrere Studien konnten zeigen, dass Antibiotika das natürliche Mikrobiom reduzieren bzw. verändern und dass es unter Antibiotikagabe zu einem geringeren Vorkommen an SCFA im Colon kommt [23–25]. Clausen et al. fanden in einer Untersuchung heraus, dass die Dickdarmfermentation in einer Patientengruppe mit AAD gestört war und verringerte Mengen an SCFA im Dickdarm vorlagen. Er resümierte daraufhin, dass ein vermehrter intraluminaler Kohlenhydratanteil, sowie verminderte intraluminale SCFA, welche eine verringerte Wasser-, sowie Elektrolytaufnahme bewirken, im Dickdarm vorliegen würden

und dieser Umstand somit eine Ursache für AAD im Sinne einer osmotischen Diarrhoe sein könnte [25].

Gallensäuren. Hoffmann et al. stellten die Hypothese auf, dass das vermehrte Vorhandensein von primären Gallensäuren im Dickdarm eine sekretorische Diarrhoe verursachen könnte. Primäre Gallensäuren könnten vermehrt vorhanden sein, wenn Bakterien fehlen, welche normalerweise primäre Gallensäuren in sekundäre Gallensäuren dehydroxylieren. Diese Bakterien könnten durch Antibiotikaeinnahme verringert vorliegen [26].

Verlust der Widerstandsfähigkeit gegenüber pathologischen Erregern:

Antibiotika verringern die mikrobielle Vielfalt im Darm und verringern dadurch die Widerstandsfähigkeit gegenüber potenziell pathogenen endogenen Erregern bzw. begünstigen das Eindringen und Vermehren exogener Erreger [16]. Die Mechanismen dafür sind vielfältig und noch unzureichend erforscht, es dürfte sich dabei jedoch etwa um Konkurrenz um Nährstoffe der Mikroben, die Produktion von Bakteriozinen, oder Induktion von Wirtsreaktionen, welche sich gegen bestimmte Mikroben richten, handeln [27].

Dies lässt sich am Beispiel von Gallensäuren demonstrieren: Primäre Gallensäuren induzieren das Wachstum von *Clostridioides difficile* Sporen, hingegen hemmen sekundäre Gallensäuren das Wachstum. Kommt es nun zum vermehrten Vorliegen primärer Gallensäuren, weil durch Antibiotikagabe eine Reduktion der Darmbakterien stattgefunden hat, kommt es zur verringerten Umwandlung primärer in sekundäre Gallensäuren, somit zum verstärkten Wachstum von *Clostridioides difficile* Sporen [28].

Direkte Effekte:

Eine Studie stellte fest, dass es bei Hunden nach Erythromycingabe zum vermehrten Auftreten von retrograd gerichteten peristaltischen Wellen (RGCs; retrograde giant contractions) und sogenannten riesigen wandernden Kontraktionen (GMCs; giant migrating contractions) kommt und dies eine Ursache für vermehrtes Erbrechen, Bauchkrämpfe und Diarrhoe nach Antibiotikagabe sein könnte [29].

Eine bereits ältere Studie zeigte verschiedene gastrointestinale Effekte nach oraler Einnahme von Neomycin bei Männern. Die Effekte waren eine Längenabnahme der Schleimhaut-Villi, sowie eine Infiltration der Lamina Propria mit Plasmazellen, pigmentierten Makrophagen und eosinophilen Granulozyten. Die grundsätzlich gesunden Proband*innen entwickelten außerdem in weiterer Folge Beschwerden in Form einer Steatorrhoe [30].

Für die Entstehung einer AAC kommen, da es sich gemäß der Definition (Kapitel 1.1.1.1) um eine Entzündung des Colons handelt, lediglich entzündliche Ursachen infrage. Jegliche oben genannten infektiösen Ursachen können daher Grund einer AAC sein. Auch Mechanismen, die eine Überwucherung mit pathogenen Erregern zur Folge haben, können somit eine AAC verursachen, da es dadurch ebenfalls zur Produktion größerer Mengen von Enterotoxinen kommt.

1.1.1.4 Klinik

Antibiotika-assoziierte Diarrhoe (AAD). Das Spektrum der AAD variiert von unkomplizierter Diarrhoe über Colitis bis hin zur PMC. Insgesamt ist eine unkomplizierte Diarrhoe die häufigste Ausprägungsform, weniger häufig ist eine Colitis und selten kommt es zur PMC mit entsprechenden Komplikationen wie dem C. diff.-assoziierten toxischen Megakolon. Die Klinik kann von weichen, ungeformten Stühlen bis zu wässriger oder schleimiger Diarrhoe mit einer Stuhlfrequenz bis zu 20 Stühlen täglich variieren [31].

Antibiotika-assoziierte Colitis (AAC). Entwickelt sich eine AAC, so kann es zu schwereren Durchfällen, abdominalen Krämpfen, hohem Fieber, Hypoalbuminämie und Leukozytose kommen. In der Koloskopie finden sich typische entzündliche Veränderungen. Bei einer CDI können zusätzlich charakteristisch übelriechende Stühle auftreten. In manchen Fällen kommt es zum paralytischen Ileus, wobei zunächst keine Diarrhoe bestehen muss. Bei der CDAC können in der histologischen Untersuchung sogenannte „summit lesions“ oder „volcano lesions“ gefunden werden [11].

Bei einer AAHC durch *Klebsiella oxytoca* finden sich blutige Durchfälle und eine segmentale Colitis, welche im rechten Colon dominiert. Pseudomembranen können hierbei in der Endoskopie nicht nachgewiesen werden [7].

Die PMC ist die schwerste Form der AAC und wird so gut wie immer durch eine CDI verursacht. Der Verlauf gestaltet sich prolongiert (1-3 Wochen) und die Symptomatik besteht aus wässriger Diarrhoe, abdominalen Krämpfen, Leukozytose, Fieber und selten Erbrechen. Die Komplikationen, die bei einer PMC entstehen können, sind vielfältig, sie reichen von Hypokaliämie, Hypoproteinämie, über das akute Nierenversagen, das toxische Megacolon, Perforation des Colons bis zum Schockgeschehen. Diese Verlaufsform ist potenziell lebensbedrohlich [11].

1.1.1.5 Diagnostik

An eine AAD sollte gedacht werden, wenn Patient*innen an anhaltender Diarrhoe leiden und innerhalb der letzten 8 Wochen Antibiotika verabreicht bekamen oder hospitalisiert waren. Gelingt kein Erregernachweis, so muss die Diagnose auf der Antibiotikaexposition und dem Ausschluss anderer relevanter Diagnosen wie etwa die Einnahme anderer Medikamente, die Diarrhoe verursachen können, chronisch entzündlicher Darmerkrankungen (CED) oder Nahrungsmittelunverträglichkeiten beruhen [11].

Clostridioides difficile. Während und nach einer rezenten Hospitalisierung sollte bei Auftreten von Diarrhoe an den Erreger *C. diff.* gedacht werden [11]. Für die Diagnose der CDAD sind folgende diagnostische Kriterien notwendig: Es muss ein Nachweis von Toxin A oder Toxin B oder von toxinbildenden *Clostridioides difficile* im Stuhl mittels Polymerase Kettenreaktion (PCR; polymerase chain reaction) oder Stuhlkulturen erfolgen, oder das Bild der pseudomembranösen Colitis in der Koloskopie nachgewiesen werden. Eine negative Koloskopie bzgl. Pseudomembranen schließt eine CDAD jedoch nicht aus [18].

Es gibt verschiedene Tests, um eine CDI nachzuweisen. Darunter fallen Stuhlkulturen für *C. diff.* (lange Nachweisdauer), Zellkultur-Zytotoxintest (TC: toxigenic culture) im Stuhl (lange Nachweisdauer), Enzymimmunoassay (EIA) für Toxin A und B im Stuhl (geringere Sensitivität), EIA für *C. diff.* Glutamatdehydrogenase (GDH) im Stuhl (geringere Spezifität) oder Kolo- und Sigmoidoskopie (nur bei Auftreten von Pseudomembranen nützlich). Mittlerweile sind auch Nukleinsäure-Amplifikations-Tests (NAAT: nucleic acid amplification technique) wie die PCR für die *Clostridioides difficile* Diagnostik zugelassen. Sie sind hochspezifisch, sowie hochsensitiv für den Nachweis von *C. diff.* [18]. Eine Studie zeigt für den Nachweis von *C. diff.* mittels PCR eine Sensitivität von 86% und eine Spezifität von 97%. Zu Bedenken gilt es jedoch, dass damit auch asymptomatische *C. diff.* Träger als erkrankt detektiert werden [32].

Für die Diagnosestellung einer CDI in der klinischen Praxis empfiehlt die ESCMID einen Algorithmus, bei dem mehrere Testmethoden kombiniert werden. Zuerst sollte ein GDH EIA oder NAAT durchgeführt werden. Ist dieser Test negativ, so liegt keine CDI vor. Bei einem positiven ersten Test, soll weiterführend ein Toxin A/B EIA durchgeführt werden. Fällt dieser Test abermals positiv aus, kann eine CDI als bestätigt angesehen werden. Bei einem positiven ersten Test und negativem zweiten Test besteht eine schwache Empfehlung der Fachgesellschaft für die Testung mittels TC oder NAAT, sofern diese nicht bereits zuvor durchgeführt wurde. Alternativ könnte die Konstellation der zuvor beschriebenen Testergebnisse auf asymptomatische *C. diff.* Träger hinweisen. [33].

Es ist nicht empfohlen, asymptomatische Patient*innen zu screenen, auch nicht den Therapieerfolg bei asymptomatischen Patient*innen nach Infektion zu überprüfen, da sich bei der Hälfte der Fälle noch *Clostridioides difficile* oder deren Toxine nachweisen lassen. Außerdem gilt es zu beachten, dass ein positives Testergebnis nach einer durchgemachten CDI keinen Nachweis für ein Rezidiv darstellt [18]. Schließlich konnte eine Metaanalyse zeigen, dass 0-15% gesunder Erwachsener und 18-90% gesunder Neugeborener und Säuglinge asymptomatisch mit *Clostridioides difficile* im Darm besiedelt sind [34].

Klebsiella oxytoca. Wie oben beschrieben (Kapitel 1.1.1.3.1), gelingt bei AAD lediglich in etwa 20% ein Erregernachweis von *Clostridioides difficile*. Toxin produzierende *Klebsiella oxytoca* dürften als Ursache der AAD in deutlich geringerer Frequenz auftreten. Högenauer et al. haben zur Diagnose der *Klebsiella oxytoca*-Infektion das Bakterium aus dem Stuhl mittels MacConkey Agar-Platten kultiviert und mithilfe des sogenannten API-E20 Systems (Analytical Profil Index), welches sich zur Identifizierung gram-negativer Entero- und Nicht-Enterobakterien eignet, differenziert. Anschließend wurden die Stämme auf einer speziellen Zellkultur auf Zytotoxinproduktion getestet [7].

Leitner et al. haben kürzlich eine neue real-time PCR getestet, mithilfe derer ein direkter Nachweis von *Klebsiella oxytoca* aus dem Stuhl möglich ist. Es ist jedoch darüber hinaus eine Detektion von Toxin produzierenden Stämmen möglich, indem bestimmte Targets (*npsA* und *npsB*) nachgewiesen werden, da diese Gene Schlüsselenzyme für die Toxinproduktion codieren. Als Kontrolle wurde in der Studie der herkömmliche Nachweis mittels Zellkultur gewählt. Die real-time PCR zeigte eine Sensitivität von 100% und eine Spezifität von 73,5%. Vermutlich ist die geringe Spezifität jedoch der geringen Sensitivität des Kontrollverfahrens, der mikrobiellen Kulturen, geschuldet, da diese manche eigentlich vorhandene *Klebsiella oxytoca* Stämme möglicherweise nicht detektieren konnte. Aufgrund der guten Ergebnisse der real-time PCR kann diese in Zukunft als first-line Diagnostik bei Verdacht auf AAHC angewandt werden, um somit einen häufigeren Erregernachweis zu generieren [19].

Differenzialdiagnostisch muss an die herkömmlichen Ursachen von Diarrhoe gedacht werden. Darunter fallen infektiöse Ursachen wie Salmonellen, Shigellen, *Campylobacter*, *Yersinien* oder toxinproduzierende *E. coli*-Stämme. Außerdem möglich sind CED, ischämische Colitis, Colonkarzinome, andere medikamentöse Ursachen, nahrungsmittelassoziierte Diarrhoe oder das Reizdarmsyndrom [11].

1.1.1.6 Therapie

Reisinger et al. empfehlen, falls die Antibiose bei AAD weiterhin notwendig sein sollte, auf ein Antibiotikum mit niedrigerem AAD-Risiko zu wechseln. Diese wären etwa Cotrimoxazol, Tetracycline, Metronidazol oder Vancomycin [35].

Die Guideline für CDI der ESCMID gibt folgende Therapieempfehlungen: Bei erster Episode einer CDI soll mittels Fidaxomicin 200mg zweimal täglich per os für 10 Tage therapiert werden. Wenn Fidaxomicin nicht uneingeschränkt verfügbar ist, kann eine Risikostratifizierung durchgeführt werden. In diesem Fall sollte Fidaxomicin jenen Patient*innen vorbehalten sein, die ein erhöhtes Rezidivrisiko vorweisen (zum Beispiel Alter > 65 Jahre, vorangegangener Krankenhausaufenthalt in den letzten drei Monaten, ein zusätzliches Antibiotikum bekommend). Patient*innen, die kein erhöhtes Rezidivrisiko aufweisen, können im Falle mangelnder Verfügbarkeit von Fidaxomicin als Zweitlinien-Therapie Vancomycin 125mg vier Mal täglich per os für 10 Tage einnehmen. Falls beide oben genannten Antibiotika nicht verfügbar sind, kann Metronidazol 500mg drei Mal täglich per Os für 10 Tage herangezogen werden. Bei hohem Rezidivrisiko kann außerdem Bezlotoxumab, ein monoklonaler Antikörper gegen Toxin B des C. diff., eingesetzt werden [8].

Liegt eine schwere CDI (siehe Kapitel 1.1.1.1) vor, kann Fidaxomicin oder Vancomycin in oben genannten Dosierungen verwendet werden. Falls keine orale Aufnahme möglich ist, können die Antibiotika über eine nasogastrale Sonde oder rektal verabreicht werden. Zusätzlich kann Metronidazol oder Tigezyclin intravenös verabreicht werden [8].

Beim ersten Rezidiv soll bei vorheriger Erstlinientherapie diese erneut verabreicht werden und der monoklonale Antikörper Bezlotoxumab zusätzlich verabreicht werden. Bei vorheriger Zweitlinientherapie soll beim ersten Rezidiv die Erstlinientherapie verabreicht werden. Bei allen weiteren Rezidiven ist eine Kombination aus der Erstlinien-Therapie mit Bezlotoxumab und einer Stuhltransplantation (FMT; fecal microbiota transplantation) indiziert. Wenn die Standardtherapieoptionen für die Therapie von Rezidiven nicht verfügbar sind, so kann auf das sogenannte „taper and pulse“ Therapieregime mit Vancomycin gewechselt werden. Die Einnahme erfolgt oral. Dabei wird 125mg vier Mal täglich für zwei Wochen verabreicht. Danach folgt die Verabreichung von 125mg zwei Mal täglich für eine Woche, anschließend 125mg einmal täglich für eine Woche. Schließlich folgen 125mg jeden zweiten Tag für eine Woche und zuletzt werden 125mg jeden dritten Tag für eine Woche eingenommen [8].

	Initial CDI	1 st recurrence	≥ 2 nd recurrence
Standard of Care (SoC)	1 st Fidaxomicin * 200 mg bid 10 days 2 nd Vancomycin 125 mg qid 10 days	SoC + Bezlotoxumab Fidaxomicin ** 200 mg bid 10 days	FMT SoC + Bezlotoxumab
High risk of recurrence**	1 st Fidaxomicin ** 200 mg bid 10 days 2 nd SoC + Bezlotoxumab		
Preferred options not available	Metronidazole 500 mg tid 10 days	Vancomycin taper and pulse ^s	Vancomycin taper and pulse ^s
Severe CDI	Vancomycin or Fidaxomicin Oral administration not possible: local delivery ^{ss} +/- adjunctive i.v. metronidazole or i.v. tigecycline		
Severe-complicated CDI & Refractory severe CDI	Vancomycin or Fidaxomicin Multidisciplinary approach with surgical consultation Consider i.v. tigecycline and FMT when refractory		

- * Risk stratification for risk of recurrence may be applied for selective use of fidaxomicin in case of limited access of resources
- ** Consider extended fidaxomicin: 200 mg bid on day 1-5. 200 mg q48h on day 7-25. Most important risk factor for recurrence is age >65-70 years. Additional risk factor(s) to consider are healthcare-associated CDI, prior hospitalization ≤ 3 months, prior CDI episode, continued non-CDI antibiotic use, and PPI therapy started during/after CDI diagnosis. The risk of recurrence is assumed higher with more risk factors present.
- ^s Vancomycin taper and pulse: 2 weeks 125 mg qid, followed by 1 week 125 mg bid, then 1 week 125 mg q48h, and finally 125 mg q72h for 1 week.
- ^{ss} Rectal or nasoduodenal delivery

Tabelle 1: Therapie CDI (adaptiert nach van Prehn et al.[8])

Eine Ausnahme stellt die AAHC, ausgelöst durch *K. oxytoca*, dar. Untersuchungen empfehlen hierbei die Beendigung der auslösenden Antibiotikatherapie, ohne dass eine andere Antibiotikatherapie eingeleitet wird, sowie Etablierung einer symptomatischen Therapie. Wenn nichtsteroidale Antirheumatika (NSAR) gegeben wurden, sollte dies auch beendet werden [7, 36].

1.1.1.7 Prognose

In der Regel sistiert die Diarrhoe 2-4 Tage nach Therapiebeginn, bei Metronidazol-Einnahme kann das Ansprechen verzögert sein.

Rezidivierende Infektionen sind häufiger bei Patient*innen über 65 Jahren, bei weiterer antibiotischer Therapie und bei weiterer Hospitalisierung. Insgesamt treten Rezidive etwa in 15%-30% der Fälle auf, wobei sie nach der Therapie mit Fidaxomicin seltener als nach Vancomycin oder Metronidazol beobachtet werden.

Die Letalität der CDI liegt aktuell bei knapp 7% und ist mit höherem Alter steigend [18].

1.2 Entzündungsmarker im Stuhl

Heutzutage stehen im klinischen Alltag mehrere inflammatorische Stuhlmarker zu Verfügung. Die wichtigsten sind Calprotectin und Laktoferrin, wobei in Mitteleuropa primär ersterer zur Anwendung kommt. Die Einsatzgebiete sind vielfältig und reichen von CED bis zu kolorektalen Karzinomen. Außerdem gibt es viele Faktoren, die eine Auslenkung der inflammatorischen Stuhlmarker verursachen können und die bei der Abnahme, Lagerung und Verarbeitung des Probenmaterials beachtet werden müssen.

1.2.1 Calprotectin

Calprotectin gilt als wichtiger Entzündungsmarker im Stuhl und spielt in der vorliegenden Forschung daher eine wesentliche Rolle. Deshalb soll in diesem Kapitel ein Überblick über diesen inflammatorischen Stuhlmarker gegeben werden. Um theoretisches Hintergrundwissen zu erlangen, wird Calprotectin zuerst in seiner Entstehung, Biochemie und Wirkung betrachtet. Da in der empirischen Arbeit Calprotectin zur Detektierung von Entzündungen herangezogen wird, ist es wichtig an dieser Stelle den Messvorgang zu beleuchten. Abschließend werden Faktoren behandelt, die den Messwert beeinflussen können und bei der Probengewinnung berücksichtigt werden sollen.

1.2.1.1 Definition Calprotectin

Calprotectin ist ein Protein aus der S100-Gruppe. Es stammt größtenteils aus neutrophilen Granulozyten und spielt eine Rolle in der angeborenen Immunantwort und hat darüber hinaus direkte antimikrobielle Eigenschaften. Das Protein kann in verschiedenen Körperflüssigkeiten nachgewiesen werden, die Höhe korreliert mit dem Grad der Entzündung. Es wird angenommen, dass die Konzentration von Calprotectin im Stuhl etwa der 6-fachen Konzentration des Serums entspricht. In der Praxis wird der Marker zur Feststellung bzw. Einschätzung des Grades von Entzündungen im Darm verwendet. Bei CED wird der Marker für verschiedene Zwecke wie Diagnostik bzw. Priorisierung von Endoskopien, Rückfallkontrolle und Therapieansprechen verwendet [37].

1.2.1.2 Entstehung

Ein Calprotectinanstieg beginnt grundsätzlich mit einer Entzündung der Darmschleimhaut. Dies führt zur Freisetzung von Zytokinen, welche die erworbene und angeborene Immunantwort aktivieren. Als Teil der zellulären, angeborenen Immunantwort wandern nun neutrophile Granulozyten aus dem Blut ins Darmlumen ein. Diese produzieren und sezernieren Calprotectin, wodurch die Entzündung weiter angeheizt wird, denn durch

Chemotaxis werden weitere neutrophile Granulozyten angelockt und endotheliale Adhäsionsmoleküle für neutrophile Granulozyten exprimiert [38].

Je nach Höhe des Calprotectins kann somit auf den Grad der Entzündung rückgeschlossen werden [37].

1.2.1.3 Biochemische Grundlagen

Calprotectin ist ein kalziumbindendes S100-Leukozytenprotein und besteht aus den zwei Monomeren S100A8 und S100A9, gemeinsam bilden sie ein Heterodimer [38].

1988 wurde Calprotectin erstmals benannt, wie Anderson et al. beschreiben. Schon damals wurden die Bindung von Calcium und eine antimykotische Wirkung gegenüber *Candida albicans* beschrieben [39].

Calprotectin wird im Wesentlichen von neutrophilen Granulozyten exprimiert, jedoch wurde auch eine Expression bei Monozyten, dendritischen Zellen, aktivierten Makrophagen, oralen Keratinozyten und Plattenepithelzellen der Schleimhaut festgestellt. In neutrophilen Granulozyten macht Calprotectin sogar 45% des Proteingehalts im Zytosol aus.

Die Expression von Calprotectin wird durch entzündliche Prozesse hervorgerufen.

An der Regulierung sind verschiedene Transkriptionsfaktoren, welche die Expression positiv oder negativ beeinflussen, wie etwa API/PU, SATB1, HIF-1, AP1 oder auch BRCA1 beteiligt.

Konkret wird die Bildung von Calprotectin durch Bakterienantigene, aber auch durch Entzündungsmediatoren wie Lipopolysaccharide, TNF-Alpha oder Interleukin 1-beta, angekurbelt. Aber auch antiinflammatorische Stoffe wie IL-10 führen zu einer Expression von S100A9 und somit zur Entstehung von Calprotectin [38].

Darüber hinaus konnte eine Calprotectinerhöhung nach Einnahme von bestimmten Medikamenten, etwa bei der Einnahme von Glukokortikoiden oder Protonenpumpen Inhibitoren (PPI) beziehungsweise bei Fehlen von Zink festgestellt werden.

Wesentlich für die intrazelluläre und extrazelluläre Funktion von Calprotectin ist die Bildung von Heterodimeren und Heterotetrameren. Dafür ist Ca^{2+} notwendig, da die Proteine S100A8 und S100A9 über Bindungsstellen für Ca^{2+} verfügen. Erst durch die Bildung von Heterodimeren bzw. Heterotetrameren wird eine notwendige Widerstandsfähigkeit gegenüber Proteasen erreicht, wird vermutet [38].

1.2.1.4 Wirkung des Calprotectins

Calprotectin ist sowohl an intrazellulären als auch an extrazellulären Vorgängen während einer Entzündungsreaktion beteiligt. Die intrazelluläre Beteiligung betreffend werden

komplexe Vorgänge diskutiert, wobei es sich um die Beeinflussung intrazellulärer Signalwege, Veränderungen des Zytoskeletts und die Leukozytenrekrutierung handelt. [30] Im Darmlumen hat Calprotectin auch eine direkte antimikrobielle Wirkung. Es kann beispielweise Chelate mit essenziellen zweiwertigen Metallionen, etwa Zink, Eisen und Kalzium, bilden, wodurch das Bakterienwachstum gehemmt wird [38].

1.2.1.5 Bestimmung/Messung

Im Jahr 1992 wurde die erste Calprotectinmessung von Røseth et al. beschrieben [40]. Damals wurde ein Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) verwendet und mit Kaninchen-Antikörpern gegen Calprotectin gearbeitet. Es waren 5g Stuhl notwendig, welcher mittels Stabmixer homogenisiert werden musste. Anschließend wurde die Konzentration in mg/L angegeben. Erst nach einigen Jahren, im Jahr 2000 wurde ein kommerzieller Test entwickelt, welcher nur noch 50-100mg Stuhl benötigte und in einem geschlossenen Röhrchen mit Einwegmaterialien durchgeführt werden konnte [41]. Hier wurden die Ergebnisse in µg pro Gramm Stuhl angegeben und waren bereits 5-fach höher als beim ersten Test.

Mittlerweile gibt es eine Vielzahl an kommerziellen Tests zur Calprotectinbestimmung. Obwohl alle Tests immunochemische Verfahren verwenden, bestehen Unterschiede bei den verwendeten Antikörpern. Manche Tests verwenden polyklonale Antikörper, andere monoklonale Antikörper, welche an unterschiedlichen Epitopen des Calprotectins binden. Außerdem gibt es Point-of-care Tests, welche direkt am Krankenbett angewandt werden und Tests, die für den Laborgebrauch gedacht sind. [29] Mittlerweile gibt es bereits Tests, welche von zu Hause aus mittels immunchromatographischem Schnelltest und einer Smartphon-Kamera ausgewertet werden können. Bello et al. beschäftigten sich mit diesen home-based-Tests und fand eine gute Korrelation zu im Krankenhaus durchgeführten ELISA Calprotectin-Bestimmungen [42].

Manufacturer	Measuring Principle	Measuring Range (µg/g)
Eurospital Calprest	ELISA	15,6-2000
Diasorin Calprotectin	CLIA	5-8000
Buhlmann fCal	ELISA	30-1800
Buhlmann fCal Turbo	PETIA	20-8000
ThermoFisher EliA Calprotectin	FEIA	3,8-6000
Euroimmun Calprotectin	ELISA	6,5-2100
Organtec Calprotectin	ELISA	5,2-1000
Calpro Inc CalproLab	ELISA	25-2500
Buhlmann Labs AG	LFIA	30-300
Quantum Blue		100-1800
Buhlmann Labs AG IBDoc*	LFIA	30-1000
Calpro Inc CalproSmart*	LFIA	70-1500
Preventis GmbH	LFIA	Semiquantitative
PreventisID CalDetect		

CLIA, Chemiluminescence immunoassay; ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay; FEIA, fluore-nzyme immunoassay; LFIA, lateral flow chromatographic immunoassay; PETIA, particle enhanced turbidimetric immunoassay.

* Can be used with dedicated smart phone application

Tabelle 2: verfügbare fäkale Calprotectin Tests zur (adaptiert nach Ayling et al. [37])

Man kann die verschiedenen Tests nur grob miteinander vergleichen, was von Whitehead et al. untersucht wurde. Beim Vergleich von drei kommerziellen Tests war ein bis zu 3-facher Unterschied in der Höhe des detektierten fäkalen Calprotectins festzustellen. Die Ergebnisse der gleichen Testkits sind aber jedenfalls vergleichbar, wie eine kontrollierte Verdünnung, die lineare Ergebnisse brachte, in derselben Studie zeigte. Außerdem zeigte die Untersuchung, dass die drei verwendeten kommerziellen Test-Kits das fäkale Calprotectin eher unterschätzen (durchschnittlich 7,8% bis 28,1% unterschätzt) im Vergleich zur manuellen Extraktionsmethode [43].

Die Gründe für die Varianz der unterschiedlichen Test-Kits könnten die verschiedenen verwendeten Antikörper sein (monoklonal, polyklonal, rekombinant, nativ). Es wäre also notwendig, dass die Tests mit definierten Standardproben kalibriert werden [37].

Während beim ersten entwickelten Calprotectintest noch ein viel höherer Grenzwert vorlag, wurde dieser mit der Weiterentwicklung und Steigerung der Genauigkeit von den meisten Herstellern auf 50 µg /g Stuhl festgelegt. Eine Studie, die sechs verschiedene Testkits verglich, zeigte für den Cut-off von 50 µg/g Stuhl eine Spezifität von 58,4%-78,5% bei einer Sensitivität von 100% [44].

Beim Grenzwert gilt es jedoch zu beachten, dass die Normwerte des Calprotectins bei Älteren und auch bei Säuglingen nach oben hin abweichen [45, 46].

Bei älteren Personen wird als Ursache über eine veränderte Ernährung und einen veränderten Lebensstil, sowie spezifische altersbedingte Veränderungen der Entzündungszellen der Magen-Darm-Mukosa diskutiert. Außerdem könnten Veränderungen des Immunsystems

eine Rolle spielen [37]. Die Konzentration des Calprotectins bei Säuglingen ist bis zu 10-fach erhöht, wie Konikoff et al. in einem Review zusammengetragen haben [46]. Dazu kursieren verschiedene Hypothesen. Eine Hypothese beschäftigt sich mit der bakteriellen Ansiedelung im Darm und einer dadurch erhöhten Aktivität des Immunsystems im Darm, was zur Calprotectinerhöhung führen könnte. Eine weitere geht von einer erhöhten Leckage der intestinalen Wand aus, wodurch Calprotectin in den Stuhl gelangen und nicht in der Mukosa akkumulieren könnte [37].

Eine neuere Kohortenstudie zeigte jedoch, dass die fäkalen Calprotectinwerte ab dem zweiten Lebensjahr in etwa stabil bleiben, verglichen mit den anderen Altersgruppen bis zum 18. Lebensjahr. Bei dieser Untersuchung wurden die Indikationen für die Messung des fäkalen Calprotectins nicht erhoben, es ist also davon auszugehen, dass einige Patient*innen CED hatten. Dies passt mit der Beobachtung zusammen, dass bei älteren Jugendlichen der Grenzwert (hier wurde $100 \mu\text{g/g}$ Stuhl verwendet) deutlich öfter überschritten wurde. Ein Erklärungsansatz, den die Autoren der Untersuchung vorlegen, könnte sein, dass dies mit einer zunehmenden Inzidenz von CED in dieser Altersgruppe zu erklären ist [47].

Bei älteren Patient*innen sollte der Grenzwert jedenfalls ebenso angepasst werden, wie Joshi et al. in einer Untersuchung herausgefunden haben. Hierbei wurden das Calprotectin 132 gesunder Patient*innen gemessen und ein statistisch analysierter Grenzwert errechnet. Dieser betrug für über 60-jährige Proband*innen $< 112 \mu\text{g/g}$.

In dieser Untersuchung wurde, im Gegensatz zur oben angeführten Kohortenstudie ein erhöhter Grenzwert für Kinder von 2-9 Jahren mit $< 166 \mu\text{g/g}$ empfohlen [48].

Die Quantifizierung von Calprotectin erfolgt meist mittels ELISA.

Die Bestimmung wird in diesem Testverfahren mithilfe von Antikörpern durchgeführt. Zuerst wird die Substanz auf einer Mikrotitrierplatte durch unspezifische Bindung an der Oberfläche fixiert. Danach erfolgt die Inkubation mit einem spezifischen (primären) Antikörper, welcher an ein bestimmtes Epitop der Zielsubstanz bindet. Danach wird ein sogenannter sekundärer Antikörper hinzugegeben, welcher mit einem Indikatorenzym gekoppelt ist. Danach kommt es zur Auswaschung der überschüssigen Reagenzien, sodass die Enzymmenge mit der Menge der zu bestimmenden Substanz proportional ist. Im Anschluss kann das Substrat des Indikatorenzymes hinzugegeben werden und durch geeignete Enzymreaktion quantifiziert werden [49].

1.2.1.6 Beeinflussung des Messwertes

Um einen möglichst aussagekräftigen und vergleichbaren Wert des fäkalen Calprotectins zu bekommen, sollten mehrere Faktoren beachtet werden. Diese werden im folgenden Kapitel besprochen.

Der Zeitpunkt der Abnahme. Dass die Konzentration des fäkalen Calprotectins im Stuhl relativ homogen ist, wurde bereits 1992 von Roseth et al. herausgefunden [40]. Man hat jedoch festgestellt, dass die Höhe des fäkalen Calprotectins einer tageszeitlichen Schwankung unterliegt [50]. Lasson et al. haben herausgefunden, dass der mittlere Variationskoeffizient bei seinen Proben innerhalb eines Tages bei 52% lag. Dies liegt daran, dass die Konzentration des fäkalen Calprotectins steigt, umso länger die Zeit zwischen den einzelnen Stuhlgängen beträgt [50]. Man hat sich daraufhin geeinigt, immer den ersten Stuhlgang des Tages für die Messung des fäkalen Calprotectins heran zu ziehen [51]. Man hat jedoch andererseits herausgefunden, dass der morgendliche Stuhl nicht immer die höchste Konzentration des fäkalen Calprotectins aufweist [52]. Die Gründe dafür sind noch nicht bekannt. Es wäre diesbezüglich empfehlenswert mehrere Messungen zu verschiedenen Zeiten durchzuführen, um eine möglichst hohe Genauigkeit zu erzielen [53].

Es ist des Weiteren zu beachten, dass Trypsin Calprotectin abbaut. Besteht eine Läsion im Bereich der proximalen Darmabschnitte, könnte es zu einer Verminderung des fäkalen Calprotectins kommen, da hierbei Calprotectin vermehrt Trypsin ausgesetzt wird. Bei Patienten mit Pankreasinsuffizienz bzw. auch bei cystischer Fibrose könnte es zu höheren Werten kommen [54].

Lagerung. Ursprünglich wurde angenommen, dass Calprotectin bei Raumtemperatur bis zu 7 Tage lang stabil sei [40]. Dies wurde jedoch kürzlich relativiert. Bei neueren Untersuchungen wurde festgestellt, dass die Konzentration des fäkalen Calprotectins etwa nach 7 Tagen bei Raumtemperatur im Mittelwert bis zu 46% zum Ausgangswert abnahm, jedoch bei einer Referenzprobe, welche auf 4° C gekühlt war, eine signifikant höhere Calprotectinstabilität nachweisbar war [55]. Eine andere Untersuchung hat ergeben, dass die fäkale Calprotectin-Konzentration bei Raumtemperatur nach 3 Tagen stabil, nach 7 Tagen jedoch signifikant abnahm (mittlere Abnahme von 28%). Bei der gleichen Untersuchung konnte auch gezeigt werden, dass fäkales Calprotectin bei -20° C bis zu einem Jahr stabil bleibt und bis zu 4 Gefrierzyklen standhält [56].

Es wurde also eine neuere Empfehlung definiert, die vorsieht, dass Calprotectin-Proben bei Raumtemperatur nicht länger als 72h, bei 2-8°C nicht länger als 7 Tage aufbewahrt werden sollten [51].

Woran sollte also in der praktischen Anwendung konkret gedacht werden?

- ersten Stuhl des Tages zur Probengewinnung verwenden
- sehr flüssige oder sehr harte Stuhlkonsistenzen für die Probengewinnung vermeiden
- Probenlagerung nicht länger als 72h bei Raumtemperatur
- für regelmäßige Messungen des fäkalen Calprotectins bei selben Patient*innen immer den gleichen Test-Kit verwenden [51]

Es wurden im Laufe der letzten Jahre verschiedene Substanzen identifiziert, die eine Veränderung des fäkale Calprotectins hervorrufen können. Im Folgenden werden die wichtigsten erläutert.

Nichtsteroidale Antirheumatika. Einige Untersuchungen beschäftigen sich mit dem Einfluss von Nicht-steroidalen-Antirheumatika auf das fäkale Calprotectin. Maiden et al. konnten einen Anstieg beobachten, den er auf eine intestinale Inflammation bei kurzfristiger Einnahme der NSAR zurückführte. Bei dieser Untersuchung wurden bei gesunden Proband*innen eine fäkale Calprotectinmessung und eine Kapselendoskopie vor und nach 2-wöchiger Einnahme eines NSAR (Diclofenac) durchgeführt. Neben Diclofenac bekamen die Proband*innen zusätzlich Omeprazol verabreicht. Nach 2-wöchiger Einnahme konnte ein signifikanter Anstieg der fäkalen Calprotectinwerte festgestellt werden. Während vor der Verabreichung ein Median von 11 µg/g Stuhl gemessen worden war, stieg der Median nach den 2 Wochen auf 82 µg/g Stuhl an. Bei 75% der Proband*innen wurde außerdem der übliche Grenzwert überschritten und alle bis auf 4 Proband*innen zeigten einen Anstieg der fäkalen Calprotectinwerte. Dieser ist wahrscheinlich durch Mukosadefekte, welche durch die Medikamenteneinnahme ausgelöst wurden, zu erklären. Denn es konnten mittels Kapselendoskopie in derselben Studie bei 68% der Proband*innen pathologische Veränderungen im Dünndarm – großteils waren das Mukosadefekte – zwei Wochen nach der Medikamenteneinnahme festgestellt werden, welche zuvor nicht vorhanden waren. Zwischen den erhöhten fäkalen Calprotectin Werten und den makroskopischen Veränderungen konnte kein statistisch signifikanter Zusammenhang festgestellt werden. Dies könnte daran liegen, dass bei der Kapselendoskopie nicht alle Läsionen im Dünndarm entdeckt wurden. Außerdem könnten Läsionen im Dickdarm übersehen worden sein, da dieser mittels Kapselendoskopie nur eingeschränkt beurteilbar ist [57].

Bereits 1999 wurde von Tibble et al. bei Patient*innen, die langfristig NSAR einnehmen, bei knapp der Hälfte der Fälle eine erhöhte fäkale Calprotectin-Konzentration festgestellt. Bei 20% waren die Werte sogar vergleichbar mit CED [58].

Wegen der möglichen Beeinflussung des Messwertes empfehlen Ricciuto et al., diese entsprechenden Medikamente 2 Wochen vor einer Messung des fäkalen Calprotectins abzusetzen [59].

Protonenpumpeninhibitoren. Lundgren et al. veröffentlichten im Scandinavian Journal of Gastroenterology eine Untersuchung, bei der herausgefunden wurde, dass auch bei PPI Einnahme ein signifikant erhöhter fäkaler Calprotectin-Spiegel zu finden sein kann [60]. Über die Ursachen dafür gibt es verschiedene Ansätze. Der höhere pH-Wert im Magen bei PPI-Einnahme könnte zu einer bakteriellen Überwucherung führen, woraufhin höhere fäkale Calprotectinwerte messbar sind. Mehrere Studien [61, 62] haben bereits gezeigt, dass PPI das Bakterienwachstum im Darm fördern, was zu einer Reaktion von neutrophilen Granulozyten führen könnte [60]. Es wäre auch denkbar, dass schlichtweg der erhöhte pH-Wert im Magen und in weiterer Folge im restlichen GI-Trakt zu einem stabileren fäkalen Calprotectin führt, wodurch letztendlich erhöhte Werte messbar sind [60]. Eine Studie hat gezeigt, dass die Änderung des PHs von 7,0 auf 8,0 zu einer erhöhten thermischen Stabilität des fäkalen Calprotectins führt [63].

Blut. Auch Blutungen können ein diskret erhöhtes fäkales Calprotectin verursachen. In „The Vampire Study“ wurde darmgesunden Proband*innen Blut oral verabreicht. nach 300 ml verabreichtem Blut waren die Hälfte der fäkalen Calprotectin-Messungen über dem Cut-off von 50 µg/g. Ein höherer Wert von 250-300 µg/g, wie bei relevanten Darmentzündungen, ist durch Blutungen jedoch selten zu erreichen [64].

Weitere. Es gibt eine lange Liste von Faktoren, die außerdem ein erhöhtes fäkales Calprotectin verursachen können und die es bei einem erhöhten Messwert zu beachten gilt. Einige davon sind: Infektiöse Diarrhoen, Magen-/Kolonkarzinome, Magen-/Colonpolypen, Lebensmittelallergien, autoimmune Enteropathien, Divertikulitis, eosinophile Gastroenteritis, mikroskopische Colitis, Zöliakie, peptische Ulzera, gastroösophagealer Reflux [59].

Die nachfolgende Tabelle von D'Amico et al. [65] zeigt, welche Faktoren bei ausgeletem fäkalem Calprotectin in die Beurteilung miteinfließen sollten.

Gastrointestinal diseases	Range of FC increase (µg/g)
Colorectal neoplasia	57-133
Colon polyps	1-117,7
Colonic diverticular disease	<15-60
Bacterial and viral gastrointestinal infections	0-994
Gastrointestinal bleeding	<20-429
Liver cirrhosis	21-357
Irritable bowel syndrome	16-294
Microscopic colitis	130-480
Proctitis after radiation therapy	50-270
Pouchitis	55-110
Medication	
Non-steroidal anti-inflammatory drugs	5-520
Proton pump inhibitors	50-150
Lifestyle	
Obesity	5-185
Physical inactivity	25-60
Other	
Age < 9 years	18-213
Age > 65 years	14-118
Bowel preparation for colonoscopy	51-17379
Rheumatologic diseases	14-513
Perianal disease	207-1705
Stoma	<150-1130

Abbreviation: FC, fecal calprotectin.

Tabelle 3: Faktoren fäkale Calprotectinerhöhung (adaptiert nach D'Amico et al. [65])

Da jetzt ein Überblick zum wahrscheinlich verbreitetsten inflammatorischen Stuhlmarker Calprotectin gegeben ist, soll auf weitere inflammatorische Stuhlmarker eingegangen werden. Der zweite bekanntere Marker dafür ist Laktoferrin, welcher eine große Überlappung mit Calprotectin im Bereich der Entstehung und auch der Verwendung aufweist. Dennoch folgend ein kurzer Überblick über Laktoferrin.

1.2.2 Laktoferrin

Laktoferrin ist, genauso wie Calprotectin, ein Protein, welches in neutrophilen Granulozyten zu finden ist. Es wird bei Aktivierung und Degranulation durch diese freigesetzt. Es bindet Eisenmoleküle, hat eine antimikrobielle Wirkung und ist gegenüber Proteolyse beständig [66]. Die Menge des Laktoferrins, welches im Stuhl gemessen wird, korreliert mit der Stärke der Entzündung, daher wird es gerne für die Differenzierung zwischen CED und Reizdarmsyndrom verwendet, weil bei letzterem keine Entzündung vorliegt.

Fäkales Laktoferrin kann bei Patienten mit CED verwendet werden, um zwischen unspezifischen Symptomen und einem Schub der chronischen Erkrankung zu differenzieren.

Darüber hinaus kann durch die Testung eingeschätzt werden, wie stark Patient*innen von einer CED betroffen sind. Ist beispielsweise nur ein Teil des terminalen Ileums entzündet, wird man niedrigere Laktoferrinspiegel messen können, als wenn etwa das ganze Colon betroffen ist. Die Lokalisation kann allein mithilfe des fäkalen Laktoferrins jedoch nicht bestimmt werden [67].

Bei Patient*innen mit CED ist außerdem ein Test bei asymptomatischen Patient*innen möglich, da gezeigt wurde, dass fäkales Laktoferrin im Falle eines Schubes bei Colitis ulcerosa ansteigt, bevor es zur Symptomausprägung kommt. Die Sensitivität hierfür lag jedoch nur bei 67%. In der gleichen Studie wurde gezeigt, dass fäkales Calprotectin einen besseren Vorhersagewert (Sensitivität 76%) hat als Laktoferrin [68].

Bei Laktoferrin kann bei einem Level unterhalb des Cut-offs von 7,25 µg/g Stuhl von dem Fehlen einer Entzündung ausgegangen werden und bei gastrointestinalen Beschwerden sollte vordergründig an funktionelle Beschwerden gedacht werden. Bei sehr hohen Laktoferrinwerten sollte jedenfalls eine weitere Abklärung erfolgen und bei Werten im Bereich des Cut-offs muss subjektiv abgewogen werden oder eine weitere Testung im Verlauf erfolgen [67].

Bei Kindern ist die Testung besonders hilfreich, da durch diesen nicht-invasiven Test eine gute Aussage über Entzündungsaktivität gemacht werden kann. Es ist besonders wichtig eine CED früh zu detektieren, da die medikamentöse Therapie im Anfangsstadium besser wirkt. Um keine CED, vor allem bei kleinen Kindern zu übersehen, ist dieser Test folglich sehr sinnvoll [67].

Bei einer weiteren Gruppe, den Schwangeren, kann die fäkale Laktoferrinbestimmung sinnvoll sein. Zum einen, weil während der Schwangerschaft manche Entzündungsparameter wie die Blutsenkungsgeschwindigkeit erhöht sein können, während aber keine zugrundeliegende Entzündung besteht. Zum anderen auch, weil bei Schwangeren die Koloskopie gerne vermieden wird, um Risiken durch die Sedierung und eine mögliche Dehydratation durch die Darmvorbereitung zu vermeiden.

In der Behandlung und im Management von CED besteht für die fäkale Laktoferrintestung großes Potenzial. Man könnte etwa Patient*innen, die eine routinemäßige koloskopische Verlaufskontrolle nach 6-12 Monaten ablehnen, alternativ eine Laktoferrintestung anbieten, um das Therapieansprechen und den Krankheitsverlauf beurteilen zu können. Vor allem wenn Patient*innen eine koloskopische Verlaufskontrolle aus Zeit- oder Kostengründen, speziell in Ländern mit schlechterer Krankenversicherung, ablehnen, wäre die fäkale

Testung eine gute Alternative. Außerdem könnte schon früher getestet werden, ob die Therapie zu einem Ansprechen führt und diese eventuell angepasst wird [67].

Neben diesen Überlegungen sollte nicht vergessen werden, dass in die Therapieentscheidung bei CED viele unterschiedliche Parameter, sowie diverse Möglichkeiten der Bildgebung einfließen [6].

Außerdem gibt es Hinweise, dass die klinischen Symptome von Patient*innen nicht immer mit den endoskopischen Untersuchungsergebnissen korrelieren. Man könnte dafür Laktoferrintests verwenden, um eine Krankheitsveränderung zu objektivieren.

Abraham betont jedoch, dass Koloskopien, wie sie speziell bei CED zur Krebsvorsorge durchgeführt werden, jedenfalls nicht durch andere Tests ersetzt werden sollten [67]. Dieses Statement wird ebenfalls durch die Guidelines der Europäischen Crohn und Colitis Organisation (ECCO – European Crohn’s and Colitis Organisation) betont [69].

Laktoferrin versus Calprotectin. Es wurde bereits mehrfach untersucht, ob Calprotectin oder Laktoferrin Vorteile bezüglich diagnostischer Genauigkeit bieten. D’Inca et al. fanden heraus, dass Calprotectin und Laktoferrin eine etwa gleich gute diagnostische Genauigkeit haben, um eine Aktivität von CED zu detektieren. Außerdem fand die Studie heraus, dass beide Marker gut mit entzündlicher Aktivität korrelieren dürften, wenn untere gastrointestinale Beschwerden wie abdominelle Schmerzen, veränderte Stuhlgewohnheiten oder Blut im Stuhl vorliegen. Es kann damit auch gut die Krankheitsaktivität bei bekannter CED überprüft werden. Die Sensitivität über beide Gruppen (untere GI-Symptome und CED-Aktivität) belief sich bei beiden Markern auf etwa 80%, die Spezifität auf etwa 85%, somit sind die beiden Marker als gleichwertig zu sehen [70].

Es ergeben sich einige Nachteile der fäkalen Laktoferrintestung.

Säuglinge, die gestillt werden, haben möglicherweise falsch positive Laktoferrinwerte, da die Muttermilch Laktoferrin enthält [67].

Ein Blick in die „Richtlinien zum Laborkatalog 2022“ der österreichischen Gesundheitskasse zeigt jedoch, dass nur die Bestimmung von Calprotectin im Stuhl honoriert wird, nicht jedoch die Bestimmung von Laktoferrin im Stuhl [71].

Die Bestimmung des Laktoferrins erfolgt ebenfalls mittels ELISA-Methode (Enzyme-Linked Immunosorbent Assays) [72] und die Stuhlproben können vor der Bestimmung einige Tage bei Raumtemperatur gelagert werden. Im gekühlten Zustand, bleibt das Laktoferrin sogar länger stabil [67].

Neben Laktoferrin und Calprotectin, welche als die bekannteren inflammatorischen Stuhlmarker angenommen werden können, existieren noch weitere, teils experimentell verwendete inflammatorische Stuhlmarker. Einige davon sollen kurz erläutert werden.

1.2.3 Andere inflammatorische Stuhlmarker

Neben dem fäkalen Calprotectin und fäkalem Laktoferrin lassen sich diverse andere Entzündungsmarker im Stuhl unterscheiden, welche als Produkte von Leukozyten zusammengefasst werden können.

Darunter fallen Lysozym im Stuhl, PMN-Elastase, Humanes Neutrophilen Lipocalin (HNL) oder Myeloperoxidase.

Die Marker konnten entweder keine eindeutige Korrelation mit der Krankheitsaktivität bei CED zeigen, waren zu unspezifisch oder es waren trotz einiger vielversprechender Ergebnisse weitere Untersuchungen notwendig [73].

Ein weiterer inflammatorischer Stuhlmarker ist das α 1-Antitrypsin. Dieses ist ein Protease-Inhibitor, welcher in der Leber, in Makrophagen und im intestinalen Epithel gebildet wird. Normalerweise ist α 1-Antitrypsin im Serum zu finden, bei einer Vielfalt an Darmerkrankungen ist jedoch ein erhöhter Wert im Stuhl messbar. Dies ist dadurch begründet, dass es hierbei zu einer erhöhten intestinalen Permeabilität kommt und ein erhöhter intestinaler Proteinverlust stattfindet.

In einigen Bereichen zeigt das α 1-Antitrypsin gute Ergebnisse, so ist etwa ein erhöhter Wert bei aktiven Morbus Crohn Erkrankungen messbar [74].

Wenn die α 1-Antitrypsin-Clearance berechnet wird, so ist dies laut einer Studie ein guter Indikator für einen Krankheitsrückfall innerhalb der nächsten 6 Monate bei Morbus Crohn. Es ergab sich ein positiver Vorhersagewert von 50% und ein negativer Vorhersagewert von 94% für einen Rückfall innerhalb der nächsten 6 Monate. Allerdings ist für diese Berechnung eine 24 Stunden Stuhlprobe, sowie ein Serum α 1-Antitrypsin notwendig, was die Bestimmung aufwendig macht [75].

Insgesamt herrscht bezüglich der ausgefalleneren inflammatorischen Stuhlmarker, abgesehen von fäkalem Calprotectin und fäkalem Laktoferrin noch Unklarheit, auch wenn diese in Zukunft in speziellen Fragestellungen Entzündungen im Darm betreffend hilfreich sein könnten [73].

Es gibt also eine Vielzahl an inflammatorischen Stuhlmarkern, manche werden experimentell, manche bereits im klinischen Alltag verwendet. In der vorliegenden Arbeit soll der Fokus jedoch auf fäkalem Calprotectin liegen. Dieses ist in unseren Breiten bereits

im klinischen Alltag angekommen, es gibt verschiedene verfügbare Test-Kits und die Studienlage dazu ist umfangreich. Im Folgenden erfolgt die Charakterisierung des fäkalen Calprotectins bei unterschiedlichen Erkrankungen und Fragestellungen.

1.2.4 Klinische Rolle bei Darmerkrankungen neben der AAD

Das folgende Kapitel beschäftigt sich somit mit der CDI, die nach Antibiotikaeinnahme eine gefürchtete Komplikation darstellt. Außerdem wird der Stellenwert des fäkalen Calprotectins bei den CED erläutert, wohl eines der ersten und wichtigsten Anwendungsgebiete fäkalen Calprotectins. Auch bei anderen, infektiösen Darmentzündungen hat fäkales Calprotectin einen Stellenwert und auch beim kolorektalen Karzinom gilt es diesen Entzündungsmarker zu beachten.

Sogar bei einer Infektion mit SARS-CoV-2 sind Auslenkungen des fäkalen Calprotectins messbar, auch auf diese soll näher eingegangen werden.

1.2.4.1 Colitis Ulcerosa und Morbus Crohn

Diese beiden häufigen Krankheitsbilder sind typischerweise mit einer Calprotectinerhöhung im Stuhl vergesellschaftet. Einen hohen Stellenwert hat der Entzündungsmarker hierbei auch zur Verlaufskontrolle der Erkrankung. Im Weiteren sollen beide Krankheitsbilder näher erläutert und auch herausgearbeitet werden, welche Rolle die Entzündungsmarker im Stuhl bei diesen Erkrankungen spielen.

Epidemiologie. Die CED sind weltweit verbreitet, es ist jedoch eine Häufung in der westlichen Welt und bei zunehmendem Lebensstandard zu finden. Die Krankheitsgruppe hat eine Prävalenz von 1:1500 und tritt somit relativ häufig auf. Es sind Männer sowie Frauen etwa gleich häufig betroffen. Morbus Crohn (MC) tritt in der Regel früher, Erstmanifestation meist zwischen 15 und 34 Jahren, und die Colitis Ulcerosa (CU) etwas später mit einem Erkrankungsgipfel zwischen 30 und 50 Jahren auf. In etwa 10% der Fälle kann keine Differenzierung innerhalb der Gruppe der CED gemacht werden, weshalb hier die Diagnose der undeterminierten Colitis gestellt wird [76].

Symptomatik. Gemeinsam hat diese Krankheitsgruppe die Symptome Diarrhoe, rektale Blutung und Bauchschmerzen. Im Vergleich zum Morbus Crohn, der im gesamten Gastrointestinaltrakt auftreten kann, findet sich die Colitis Ulcerosa ausschließlich im Colon, kontinuierlich vom Rektum ausbreitend. Während bei CU die blutig-schleimige Diarrhoe als Leitsymptom beschrieben wird, sind die Leitsymptome bei MC Bauchschmerzen und Diarrhoe. Blutungen sind hingegen deutlich seltener als bei der CU. Die Schmerzen sind eher im rechten unteren Quadranten lokalisiert, dies entspricht der am häufigsten befallenen

Ileocecalregion. Bei CU bestehen ebenfalls meist Bauchschmerzen, jedoch häufig linksseitig gelegen [6, 76].

Komplikationen. Beim MC stehen Fistelbildungen, Stenosen und anorektale Abszesse im Vordergrund. Bei der CU sind mögliche Komplikationen Wachstumsstörungen im Kindesalter, massive Blutungen, das toxische Megacolon und das Risiko für kolorektale Karzinome. Gemeinsam haben beide Krankheiten die extraintestinalen Manifestationen wie etwa Arthritis, Iritis, Uveitis, Erythema nodosum, Fettleber oder primär sklerosierende Cholangitis [77].

Laktoferrin/Calprotectin. Die inflammatorischen Stuhlmarker Laktoferrin und Calprotectin sind in der Regel gute Marker, ob eine Entzündung im Darm vorliegt. Laktoferrin ist hierbei hochspezifisch und hochsensitiv für das Vorliegen einer Entzündung, wobei die Calprotectinkonzentration im Stuhl gut mit der entzündlichen Aktivität korreliert. Genauso lassen sich durch die Konzentration des Calprotectins Rückschlüsse auf die Prognose hinsichtlich Rezidiven und dem Risiko einer Pouchitis ziehen [18].

Fäkales Calprotectin kann bei manifester Erkrankung vielfältig eingesetzt werden: Neben Krankheitsaktivität als Marker für Schleimhautheilung, als Prädiktor für einen Rückfall oder zur frühzeitigen Erkennung eines postoperativen Rückfalls, aber auch zur Entscheidungshilfe bei der Beendigung einer Behandlung [78].

Krankheitsaktivität. Es wurde herausgefunden, dass das fäkale Calprotectin mit der endoskopischen und histologischen Aktivität gut korreliert [78]. In einer Metaanalyse wurden die Daten von 727 Patient*innen mit MC und 744 Patient*innen mit CU eingeschlossen und bezüglich der diagnostischen Genauigkeit für eine aktive CED oder eine CED in Remission in Abhängigkeit von verschiedenen Cut-offs ausgewertet. Hier zeigten sich die besten Ergebnisse zur Überwachung der Krankheitsaktivität bei einem Cut-off von 250 µg/g mit einer Spezifität von 82% und einer Sensitivität von 80%. Dieser Cut-off könnte also herangezogen werden, um eine Therapieeskalation durchzuführen. Die Autoren weisen jedoch darauf hin, dass hierbei 18% der Patient*innen falsch positive Werte zeigen würden und ein Overtreatment erhalten würden, jedoch 20% der Krankheitsrückfälle nicht sofort erkannt werden würden und sich derselben Behandlung verzögern würde [79].

Therapieeskalation. Louis et al. haben in einer Untersuchung verschiedene Risikofaktoren ausgemacht, die für einen Rückfall bei Morbus Crohn sprechen könnten. Darunter findet sich unter anderem eine fäkale Calprotectin-Baseline von > 300 µg/g. Mit der Beachtung dieses Risikofaktors in Zusammenschau mit anderen klinischen Faktoren könnten Patient*innen ausgemacht werden, die ein geringes Risiko für einen Rückfall haben

und somit in ihrer Therapie deeskaliert werden könnten, so wäre etwa eine Einsparung der Therapie mit monoklonalen Antikörpern möglich [80].

1.2.4.2 Funktionelle Darmbeschwerden vs. chronisch entzündliche Darmerkrankungen

Funktionelle Darmbeschwerden sind mit einer Prävalenz von 11,2% häufig [81]. Aufgrund der Symptomatik ist eine Differenzierung zwischen funktionellen Darmbeschwerden und CED oft nicht möglich, weshalb diagnostische Tests notwendig sind. Der Gold-Standard, die Endoskopie, ist unangenehm, benötigt Ressourcen und kann Komplikationen verursachen und somit die Morbidität erhöhen. Es ist also von Vorteil einen leicht verfügbaren, nicht-invasiven diagnostischen Test zu haben [37]. Es eignet sich also sowohl die Laktoferrin- als auch die Calprotectinbestimmung zur Differenzierung der CED von funktionellen Darmerkrankungen, bei denen kein pathologisches Korrelat gefunden werden kann [18, 82].

Zur Differenzierung zwischen IBS (irritable bowel syndrom = funktionelle Darmbeschwerden) und IBD (inflammatory bowel disease = CED) wurden mehrere Metaanalysen ausgewertet. Untersuchungen von van RheeNan et al. zur fäkalen Calprotectinbestimmung bei Verdacht auf eine CED haben für die Diagnose mittels fäkalem Calprotectin eine Sensitivität von 93% und eine Spezifität von 96% bei Erwachsenen und eine Sensitivität von 92% und eine Spezifität von 76% bei Kindern ergeben. (Cut-off 50µg/g). Der Autor rechnet vor, dass somit 67% der Koloskopien bei Erwachsenen eingespart werden könnten. Die Diagnose einer CED würde dann jedoch bei 6% der Erwachsenen wegen eines falsch negativen fäkalen Calprotectin-Tests übersehen werden und könnte erst verspätet gestellt werden.

Wird fäkales Calprotectin bei Patienten mit unklarer GI-Symptomatik bestimmt, kann bei negativen Werten davon ausgegangen werden, dass keine relevante entzündliche gastrointestinale Pathologie vorliegt. Ein hohes fäkales Calprotectin hat jedoch eine hohe Sensitivität für CED und führt üblicherweise zur Durchführung einer endoskopischen Untersuchung zur Diagnosesicherung [83].

1.2.4.3 Mikroskopische Colitis

Zum Nutzen von inflammatorischen Stuhlmarkern bei mikroskopischer Colitis wurden bis dato nur wenige Studien durchgeführt [66]. Limburg et al. haben 11 Patient*innen mit mikroskopischer Colitis (ebenso waren Patient*innen mit kollagener Colitis, als Unterform der mikroskopischen Colitis inkludiert) untersucht und ein fäkales Calprotectin von

durchschnittlich 226 µg/g Stuhl nachweisen können. Dies war im Vergleich zur Kontrollgruppe ohne intestinale Inflammation höher, jedoch im Vergleich zur Gruppe mit CED ein deutlich niedrigerer Durchschnitt (Median 1722µg/g Stuhl) [84].

Eine größere Studie wurde mit Patient*innen, die an einer kollagenen Colitis leiden, gemacht. Hierbei verglichen Wildt et al. die Ergebnisse der fäkalen Calprotectinmessung bei aktiven Krankheitsschüben und bei kollagener Colitis in Remission bei denselben Patient*innen. Bei aktiver Erkrankung waren die Werte mit durchschnittlich 80 µg/g Stuhl signifikant höher als bei in Remission befindlicher mikroskopischer Colitis (26µg/g Stuhl, P=0,25). In der Kontrollgruppe bei Patient*innen ohne mikroskopische Colitis war der durchschnittliche gemessene fäkale Calprotectinwert deutlich niedriger mit 6,25µg/g Stuhl P=0,002). Limitierend sei gesagt, dass bei 8 der 21 Patient*innen mit aktiver kollagener Colitis keine erhöhten fäkalen Calprotectinspiegel (Cut-off 50µg/g Stuhl) gezeigt werden konnten. Dies entspricht 38% und lässt somit keine verlässlichen Rückschlüsse durch Calprotectinmessung auf die Krankheitsaktivität von kollagener Colitis zu. Laktoferrin dürfte in dieser Hinsicht auch ungeeignet sein, denn es wurde nur bei 1 der 21 Patienten ein erhöhter Laktoferrinspiegel festgestellt. Eine mögliche Erklärung für die Diskrepanz könnte sein, dass bei der kollagenen Colitis weniger neutrophile Granulozyten vorhanden sind, welche Laktoferrin sezernieren könnten. Das gemessene fäkale Calprotectin könnte hingegen auch von Monozyten/Makrophagen stammen [85].

1.2.4.4 Infektiöse Durchfallerkrankungen

Kim et al. untersuchten 80 ein- bis 18-jährige Kinder und Jugendliche, die eine Gastroenteritis hatten. Man differenzierte zwischen viralen Erregern, meist Norovirus und bakteriellen Erregern, meist Clostridioides perfringens. Es konnte ein signifikanter Unterschied in der Höhe des fäkales Calprotectins festgestellt werden. Während der Median des fäkalen Calprotectins bei viralen Erregern bei 560 µg/g [interquartile range: IQR, 60-669 µg/g] lag, fand sich ein Median von 985 µg/g [IQR, 272-1984 µg/g] bei bakteriellen Erregern [86].

Eine andere Studie differenzierte genauer zwischen den Erregern. Sie wurde ebenfalls bei Kindern mit Gastroenteritis im Alter zwischen 3 Monaten und 10 Jahren durchgeführt. Ein hoher fäkaler Calprotectinwert konnte bei Salmonelleninfektionen (Median und Range 765 [252–1246] µg/g) oder Campylobacter Infektionen (Median und Range 689 [307–1046] µg/g) gefunden werden. Deutlich niedriger waren die fäkalen Calprotectinwerte bei Rotavirus Infektionen (Median und Range 89 [11–426] µg/g), Norovirus Infektionen

(Median und Range 93 [25– 405] µg/g) oder Adenovirus Infektionen (Median und Range 95 [65–224] µg/g). Außerdem korrelierte in dieser Untersuchung der fäkale Calprotectinwert mit der Schwere der Infektion. Eine schwere (Median und Range 843 [284–1246] µg/g) oder moderate (Median und Range 402 [71–995] µg/g) Infektion wies einen signifikant höheren fäkalen Calprotectinwert im Vergleich zu milden Infektionen (Median und Range 87 [11–438]µg/g) auf [87].

1.2.4.5 Kolorektales Karzinom

In einer Studie aus dem Jahr 2011 wurde gezeigt, dass in Biopsie-Präparaten im Bereich von Adenomen und kolorektalen Karzinomen eine erhöhte Expression von Calprotectin zu finden ist. Mittels Immunhistochemie konnte dargestellt werden, dass die Erhöhung hauptsächlich mit Granulozyten und Makrophagen assoziiert sein dürfte [88].

Es könnte daraus schlussgefolgert werden, dass bei Neoplasien eine Entzündungsreaktion vorherrscht, welche, neben der erhöhten Expression von Calprotectin im Gewebe, auch einen fäkalen Calprotectin-Anstieg auslöst.

Eine Meta-Analyse aus dem Jahr 2007 hat lediglich eine nicht-signifikante Erhöhung (P=0,18) des Calprotectinspiegels im Vergleich von Patient*innen mit kolorektalem Karzinom und gesunden Proband*innen gefunden. Daraus wurde schlussgefolgert, dass fäkales Calprotectin kein geeignetes Screening-Instrument für das kolorektale Karzinom in der Gesamtbevölkerung darstellt [89].

Zwei neuere Studien untersuchten die diagnostische Aussagekraft von fäkalem Calprotectin bei Patient*innen mit und ohne kolorektalem Karzinom mit dem üblichen Cut-off von 50µg/g. Eine Untersuchung zeigte einen Median von 227 µg/g [IQR 94,5 - 496 µg/g] für Patient*innen, welche an einem kolorektalen Karzinom erkrankt waren. Die Studie hatte 654 Proband*innen, wobei letztlich 39 an einem kolorektalen Karzinom erkrankt waren. Die Untersuchung konnte außerdem einen guten negativen Vorhersagewert von 98,6% [90], eine andere Studie 98,2% [91] zeigen. In der Interpretation der Zahlen sollte bedacht werden, dass eine geringe Inzidenz einen fälschlicherweise hohen negativen Vorhersagewert verursachen könnte.

Fäkales Calprotectin hat somit nicht nur bei jungen Patient*innen im Bereich der CED einen Stellenwert zur Risikostratifizierung, sondern es kann auch bei allen Patient*innen mit Symptomen des unteren Gastrointestinaltraktes zur Risikostratifizierung herangezogen werden. Dies könnte helfen überflüssige Endoskopien zu reduzieren [37].

Frühere Studien hatten bereits erhöhte fäkale Calprotectinspiegel bei Ösophagus- und Magenkarzinomen festgestellt. Auch wenn es derzeit noch zu wenig Daten für die diagnostische Verwendung von fäkalem Calprotectin in diesem Bereich gibt, sollte auf Tumoren des oberen GI-Traktes, insbesondere bei erhöhten fäkalen Calprotectinspiegeln, jedoch unauffälliger Koloskopie nicht vergessen werden [37].

1.2.4.6 SARS-CoV-2

Effenberger et al. haben gezeigt, dass es bei einer Sars-CoV-2 Infektion unter gewissen Umständen zu erhöhten fäkalen Calprotectinwerten kommt. Eine Erhöhung konnte bei Patient*innen mit Covid-19 und akuter Diarrhoe mit einem Wert von 123,2 (\pm 58.8) μ g /g gezeigt werden. Bei Covid-19 Patient*innen mit stattgehabter Diarrhoe, welche bereits mindestens 48 Std. sistiert war, konnte lediglich ein Durchschnittswert von 37.2 (\pm 14.4) μ g /g gezeigt werden. Die Erhöhung könnte durch einen Tropismus des Virus im Darm begründet sein, wodurch es zur Bindung an Epithelzellen des Darms kommt und in weiterer Folge Entzündungszellen, unter anderem neutrophile Granulozyten oder Makrophagen, welche bekanntlich Calprotectin sezernieren können, angelockt werden [92].

2 Material und Methoden

Im zweiten Teil dieser Arbeit soll vorhandene Literatur auf den Einfluss von Antibiotika-Einnahme auf Marker der Inflammation im Stuhl am Beispiel von fäkalem Calprotectin durchsucht werden. Hierzu wird eine systematische Literaturrecherche durchgeführt.

Vorneweg sollen die Forschungsfragen definiert werden:

Welche Rolle spielt die fäkale Calprotectinbestimmung bei der AAD?

Welche Rolle spielt die fäkale Calprotectinbestimmung nach Antibiotikaeinnahme ohne Diarrhoe?

Die Datenaquirierung für die Literatursuche wird mithilfe der Meta-Datenbank „Pubmed“ durchgeführt. Als Suchbegriffe werden folgende Stichworte verwendet:

- (Calprotectin) AND ((CDI) OR (Clostridioides Difficile Infection) OR (Clostridium Difficile Infection))
- (Calprotectin) AND (antibiotic associated diarrhea)
- (Calprotectin) AND (antibiotic associated colitis)
- (Calprotectin) AND (Klebsiella oxytoca)
- (Calprotectin) AND (non CDI)
- (Calprotectin) AND (antibiotics).

Hierdurch ergeben sich 351 Treffer. Durch Hinzufügen von Titeln mittels Durchsicht von Quellen der gefunden Artikel ergibt sich ein weiterer Titel. Nach Entfernung der Duplikate und Durchsicht der Ergebnisse werden jene Arbeiten, die keinen Themenbezug aufwiesen aussortiert, wodurch 24 Titel übrig bleiben. Von den verbliebenen Titeln wird mittels Volltext-Screenings drei Arbeiten ausgeschlossen, da es sich hierbei um Reviews handelt oder keine Relevanz festgestellt wird. Letztlich stellen sich 21 Arbeiten als geeignet zur qualitativen Analyse dar.

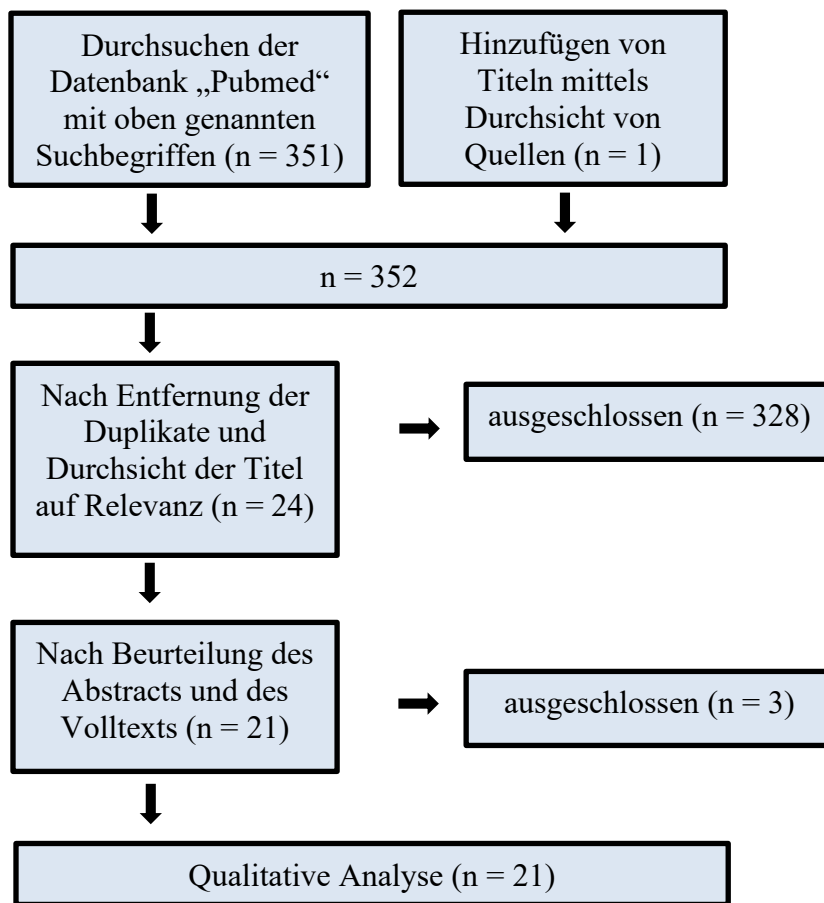


Abbildung 1: Vorgehensweise bei der Literatursuche (eigene Darstellung)

3 Ergebnisse

Die nach dem oben genannten Schema gefundenen 21 Arbeiten werden hier nun tabellarisch dargestellt, näher beschrieben, inhaltlich analysiert und miteinander verglichen. Die dargestellten Arbeiten wurden zwischen 2014 und 2023 publiziert. Inhaltlich lassen sie sich in 9 verschiedene Themengebiete kategorisieren:

- Calprotectin bei CDI vs. non-CDI AAD
- Calprotectin bei CDI vs. non-CDI Diarrhoe
- Calprotectin bei CDI vs. Kolonisation
- Calprotectin und CDI-Komplikationen
- Calprotectin und CDI-Schweregrade
- Calprotectin bei CDI Toxin pos. vs. CDI Toxin neg.
- Calprotectin und Therapieansprechen
- Calprotectin bei CDI-Rückfällen
- Calprotectin und Korrelation zum Tod

Das Studiendesign wird bei 16 Studien in Form einer Kohortenstudie durchgeführt, bei fünf Arbeiten liegen Fall-Kontroll-Studien vor. In 13 Untersuchungen erfolgt die quantitative Calprotectinbestimmung mittels ELISA-Verfahren, andere Verfahren sind Lateral-Flow-Tests, Fluoreszenz-Enzym-Immunoassay (FEIA), EIA-Verfahren und Chemolumineszenzimmunoassay (CLIA). Bei einer Studie kann das Testverfahren nicht recherchiert werden, da kein Zugang zu den „supplementary methods“ verfügbar ist.

Autor*innen	Inhalt	Studiendesign	Testkit
A. Gallo et al. 2018 [93]	Calprotectin bei CDI-Rückfällen	Kohortenstudie	ELISA; Calprest kit, Eurospital SpA
	Calprotectin und Therapieansprechen		
	Calprotectin Korrelation zum Tod		
A. Gallo et al. 2020 [94]	Calprotectin und Therapieansprechen (FMT)	Kohortenstudie	ELISA; Calprest kit, Eurospital SpA
Barbut et al. 2017 [95]	CDI tox. pos. vs. CDI tox. neg.	Fall-Kontroll-Studie	lateral flow assays, Quantum Blue, Bühlmann
	CDI vs. non-CDI Diarrhoe		
Darkoh et al. 2014 [96]	CDI vs. non-CDI AAD	Kohortenstudie	ELISA; HK325 Human Calprotectin ELISA Kit, Hycult Biotech
Fernández et al. 2023 [97]	Calprotectin bei CDI-Rückfällen	Kohortenstudie	ELISA; Bühlmann fCAL® ELISA, Bühlmann
	Calprotectin und CDI-Schweregrad		
Han et al. 2020 [98]	CDI vs. Kolonisation	Kohortenstudie	FEIA; EliA calprotectin, Thermo Fisher Scientific
Hanania et al. 2016 [99]	Calprotectin und CDI-Schweregrad	Fall-Kontroll-Studie	ELISA; Calprotectin ELISA assay kit, Eagle Biosciences
	CDI vs. non-CDI AAD		
He et al 2018 [100]	CDI vs. non-CDI Diarrhoe	Fall-Kontroll-Studie	ELISA; Phical Test, Calpro AS
	CDI tox. Pos. vs. CDI tox. neg.		
	Calprotectin und CDI-Schweregrad		
Hibbard et al. 2019 [101]	Calprotectin und Therapieansprechen (FMT)	Kohortenstudie	ELISA; Calprotectin ELISA assay kit, Eagle Biosciences
Jieun et al. 2017 [102]	Calprotectin und CDI-Schweregrad	Fall-Kontroll-Studie	ELISA; Calprotectin Bühlmann ELISA, Bühlmann
Kelly et al. 2020 [103]	CDI vs. Kolonisation	Kohortenstudie	ELISA; Bühlmann fCAL® ELISA, Bühlmann
	CDI vs. non-CDI Diarrhoe		
M. Drózdź et al. 2019 [104]	Calprotectin und CDI-Schweregrad	Kohortenstudie	EIA; Ridascreen Calprotectin, R-Biopharm
Nicholson et al. 2017 [105]	Calprotectin bei CDI-Rückfällen	Kohortenstudie	ELISA; Calprotectin ELISA assay kit, Eagle Biosciences
Peretz et al. 2016 [106]	Calprotectin und CDI-Schweregrad	Fall-Kontroll-Studie	CLIA; Liaison Calprotectin Stool, Saluggia
Popiel et al. 2015 [107]	CDI vs. non-CDI Diarrhoe	Kohortenstudie	lateral flow assays, Quantum Blue, Bühlmann
Rao et al. 2016 [108]	Calprotectin und CDI-Komplikationen	Kohortenstudie	lateral flow assays, Quantum Blue, Bühlmann
	Calprotectin bei CDI-Rückfällen		
	Calprotectin und CDI-Schweregrad		
Suárez Carantoña et al. 2021 [109]	CDI vs. Kolonisation	Kohortenstudie	EIA, Calprotectina Blister, Vircell lab
Swale et al. 2014 [110]	CDI vs. non-CDI AAD	Kohortenstudie	ELISA; Phical Test, Calpro AS
	Calprotectin und CDI-Schweregrad		
	Calprotectin bei CDI-Rückfällen		
	Calprotectin Korrelation zum Tod		

Vázquez-Cuesta et al. 2023 [111]	Calprotectin bei CDI-Rückfällen	Kohortenstudie	ELISA; EDI Quantitative Faecal Calprotectin ELISA, Epitope Diagnostics
Villafuerte Gálvez et al. 2023 [112]	CDI vs. non-CDI Diarrhoe	Kohortenstudie	keine Daten verfügbar.
	CDI vs. Kolonisation		
Voicu et al. 2021 [113]	Calprotectin und CDI-Schweregrad	Kohortenstudie	ELISA

Tabelle 4: Studienübersicht (eigene Darstellung)

3.1 Calprotectin bei CDI vs. non-CDI AAD und non-CDI Diarrhoe

Drei Arbeiten beschäftigen sich mit dem Vergleich von CDI und non-CDI AAD in Bezug auf den fäkalen Calprotectinwert. Die non-CDI AAD Patient*innen bekamen alle eine Antibiotika-Therapie, es konnte jedoch keine CDI bestätigt werden. Hanania et al. [99] vergleichen zusammengefasste fäkale Calprotectinwerte von nicht schwerer CDI und non-CDI-AAD mit schwerer CDI. Hierfür zeigt sich ein statistisch signifikant erniedrigter fäkaler Calprotectinwert in der Gruppe der non-CDI AAD. Des Weiteren wird in dieser Arbeit ein optimaler Cut-off zur Differenzierung zwischen CDI und non-CDI AAD berechnet. Dieser liegt bei 69 µg/g mit einer Sensitivität und Spezifität von 57% und 88%. Swale et al. 2016 [110] vergleichen die fäkalen Calprotectinwerte von Proband*innen mit CDI und non-CDI AAD, wobei die Gruppe der CDI-Proband*innen einen statistisch signifikant höheren Wert aufweisen. Bei der Berechnung der Receiver-Operating-Characteristics – Kurve (ROC-Kurve) kann ein optimaler Cut-off von 148 µg/g mit einer Sensitivität und Spezifität von 81,8% und 76,5% und eine area under the curve (AUC) von 0,864 zur Diskriminierung zwischen beiden Gruppen berechnet werden. Auch Darkoh et al. [96] können in der Gruppe der CDI eine statistisch signifikant höheren Calprotectinwert ermitteln.

Autor*innen	Gruppen	Calprotectin, Median	p-Wert	Optimaler Cut-off	Sensitivität / Spezifität	AUC
Hanania et al. 2016 [99]	schwere CDI (n=50)	276 µg/g	0,0012	117 µg/g	70% / 83%	0,84
	nicht schw. CDI (n=50) / non-CDI AAD (n=50)	11 / 16 µg/g				
	CDI (n=100)	-	-	69 µg/g	57% / 88%	0,70
	non-CDI-AAD (n=50)	-				
Swale et al. 2014 [110]	CDI (n=159)	684,8 µg/g	<0,0001	148 µg/g	81,8% / 76,5%	0,864
	non-CDI-AAD (n= 51)	66,5 µg/g				
Darkoh et al. 2014 [96]	CDI (n=50)	18 µg/ml	0,002	-	-	-
	non-CDI AAD (n=50)	6,5 µg/ml				

Tabelle 5: Calprotectin bei CDI vs. non-CDI AAD (eigene Darstellung)

Des Weiteren finden sich fünf Untersuchungen, die Calprotectinwerte von CDI Patient*innen und non-CDI Diarrhoe Patient*innen vergleichen. Die Ursache der Diarrhoe in der non-CDI Diarrhoe - Gruppe ist hierbei unterschiedlich und es wird nicht klar, ob diese Patient*innen eine Antibiotikatherapie erhielten, weshalb sie nicht als „non-CDI AAD“ deklariert werden können.

Alle fünf Studien zeigen höhere fäkale Calprotectinwerte in der Gruppe mit CDI verglichen zur Gruppe mit non-CDI Diarrhoe. In den drei Arbeiten, welche die statistische Signifikanz mittels p-Wert-Berechnung durchführen, kann eine statistische Signifikanz gezeigt werden. Zwei Studien führen für die hier dargestellten Gruppenvergleiche keine Berechnungen für statistische Signifikanz durch, da es sich bei der Fragestellung um Subgruppen handelt.

Popiel et al. 2015 [107] berechnet zur Differenzierung zwischen CDI positiver und non-CDI Diarrhoe einen optimalen Cut-off von 135 µg/g mit einer berechneten Sensitivität / Spezifität von 88,6% / 75% bei einer AUC von 0,82.

Autor*innen	Gruppen	Calprotectin µg/g, Median	p-Wert
Barbut et al. 2017 [95]	CDI pos. (n=135)	218,0	0,001
	Non-CDI Diarrhoe (n=135)	111,5	
He et al 2018 [100]	CDI pos. (n= 117)	183,6	0,006
	Non-CDI Diarrhoe (n = 115)	145,6	
Kelly et al. 2020 [103]	CDI pos (n = 120)	290,8	*
	Non-CDI Diarrhoe (n = 44)	74,9	
Popiel et al. 2015 [107]	CDI pos. (n=44)	983	<0,001
	Non-CDI Diarrhoe (n=20)	<100	
Villafuerte Gálvez et al. 2023 [112]	CDI pos (n = 43)	185	*
	Non-CDI Diarrhoe (n=26)	75,8	
*für diese beiden Gruppen kein P-Wert berechnet			

Tabelle 6: Calprotectin bei CDI vs. non-CDI Diarrhoe (eigene Darstellung)

3.2 Calprotectin bei CDI vs. C. diff.-Kolonisation

Vier Studien beschäftigen sich mit den fäkalen Calprotectinwerten bei CDI und C. diff.-Kolonisation. Bei allen wird ein statistisch signifikanter höherer fäkaler Calprotectinwert bei der Gruppe mit manifester CDI festgestellt. Zu erwähnen ist, dass Suárez Carantoña et al. 2015 [109] die Patient*innengruppen durch einen Infektiologen einteilen ließen, welcher bezüglich der fäkalen Calprotectinwerte verblindet war. Somit teilen sich die hier verglichenen Patient*innengruppen auf in Patient*innen, bei denen eine CDI aufgrund der

Einschätzung des Infektionlogen angenommen wurde und die eine CDI-spezifische Therapie erhielten und in Patient*innen, bei denen eine C. diff.-Kolonisation oder ein selbstlimitierender Verlauf angenommen wurde und die keine CDI-spezifische Therapie erhielten. Die restlichen drei Studien hingegen vergleichen jeweils Patient*innen mit manifester CDI und asymptomatischen Patient*innen, bei denen jedoch eine Besiedelung des Darms mit C. Diff. gezeigt werden konnte.

Autor*innen	Gruppen	Calprotectin µg/g, Median	p-Wert
Han et al. 2020 [98]	CDI, Diarrhoe (n=89)	199	<0,001
	C. diff.-Kolonisation, asymptomatisch (n=93)	23	
Kelly et al. 2020 [103]	CDI, Diarrhoe (n=120)	290,8	0,088
	C. diff.-Kolonisation, asymptomatisch (n=43)	174,9	
Suárez Carantoña et al. 2021 [109]	CDI angenommen ¹ (n=83)	410	<0,01
	C. diff.-Kolonisation* angenommen ¹ (n=26)	51	
Villafuerte Gálvez et al. 2023 [112]	CDI, Diarrhoe (n = 43)	185	0,3629
	C. diff.-Kolonisation, asymptomatisch (n=42)	168,4	
¹ Patient*innengruppen vom Infektiologen (verblindet bzgl. fäkalem Calprotectin) eingeteilt *oder als selbst limitierend eingeschätzt			

Tabelle 7: Calprotectin bei CDI vs. C. diff.-Kolonisation (eigene Darstellung)

3.3 Calprotectin und Korrelation zu Komplikationen bei CDI

Die Korrelation zu Komplikationen und Rückfällen wird von Rao et al. [108] untersucht. Sie können für einen fäkalen Calprotectinwert > 2000 µg/g eine Odds Ratio (OR) von 24,9 für das Auftreten von Komplikationen/Rückfällen bei einer CDI nachweisen, nachdem Anpassungen für Geschlecht und nachweisbarem(n) fäkalem(n) Toxin(en) durchgeführt wurden.

Autor*innen	Gruppen	Calprotectin µg/g	Odds Ratio	p-Wert
Rao et al. 2016 [24, 108]	Korrelation zu Komplikationen / Rückfällen	normalized fecal calprotectin > 2000	24,9*	0,007
*nach Anpassung für Geschlecht und nachweisbarem(n) fäkalem(n) Toxin(en)				

Tabelle 8: Calprotectin und Korrel. zu Komplikationen bei CDI (eigene Darstellung)

3.4 Calprotectin und CDI-Schweregrade

Calprotectin im Zusammenhang mit dem Schweregrad einer CDI wird in den ausgewählten Studien insgesamt neun Mal untersucht.

Es werden jeweils milde oder nicht schwere CDI-Erkrankungen mit moderaten, schweren oder fulminanten Verläufen verglichen. In einer Studie wird die Gruppe der nicht schweren CDI mit der non-CDI AAD vereint (Hanania et al. 2016 [99]). Insgesamt werden in allen Studien Daten von 891 Patient*innen verglichen. In acht der neun Untersuchungen wird in den Gruppen mit schwererer CDI ein höherer fäkaler Calprotectinwert gemessen. Es zeigt sich jedoch lediglich in sechs der neun Arbeiten eine statistische Signifikanz hinsichtlich des Unterschieds der fäkalen Calprotectinwerte der beiden Gruppen. Vier Arbeiten geben einen optimalen Cut-off Wert für fäkales Calprotectin zur Unterscheidung zwischen milderer und schwereren Formen einer CDI an. Diese variieren jedoch zwischen 117 µg/g (Hanania et al. 2016 [99]) und 729,8 µg/g (Jieun et al. 2017 [102]). Die Sensitivität / Spezifität für die Messung des fäkalen Calprotectins mit obiger Fragestellung variiert zwischen 70% / 83% (Hanania et al. 2016 [99]) und 100% / 76% (Jieun et al. 2017 [102]).

Eine Arbeit (He et al. 2018 [100]) untersucht ausschließlich Patient*innen, die an einer Krebserkrankung leiden.

Autor*innen	Gruppen	Calprotectin µg/g, Median	p-Wert	Optimaler Cut-off	Sensitivität/Spezifität	AUC	Schweregradenteilung
Fernández et al. 2023 [97]	schwere - fulminante CDI (n = 79) Milde - moderate CDI (n= 91)	1196 605	0,043	439 µg/g	75,9% / 43,9%	0,526	IDSa/SHEA Guideline
Hanania et al. 2016 [99]	schwere CDI (n=50) nicht schwere CDI (n=50) / non-CDI AAD (n=50)	276 11 / 16	0,0012	117 µg/g	70% / 83%	0,84	Severity assessment score entwickelt von Zar et al. [114]
He et al 2018 [100]	schwer - komplizierte CDI (n = 22) mild - moderate CDI (n = 95)	218,5 182,1	0,014				IDSa/SHEA Guideline
Jjeun et al. 2017 [102]	schwere CDI (n=30) milde CDI (n=50)	1391,5 188,2	<0,001	729,8 µg/g,	70% / 80%	0,746	Severity assessment score entwickelt von Zar et al. [114]
M. Drózdź et al. 2019 [104]	schwere CDI (n=31) nicht schwere CDI (n=45)	780 661	0,001	-	-	-	Modifizierte ESCMID- Kriterien
Perez et al. 2016 [106]	moderate CDI (n=5) milde CDI (n=24)	höher* niedriger*	0,0633	-	-	-	CSI - Score
Swale et al. 2014 [110]	schwere CDI (n=48) nicht schwere CDI (n=116)	969,3 969,3	0,09	-	-	-	Guidelines herausgegeben von Public Health England
Voicu et al. 2021 [113]	schwere CDI (n=18) milde CDI (n=41)	615,14 195,42	<0,001	290,09	100% / 76%	0,953	Severity assessment score entwickelt von Zar et al. [114]
A. Gallo et al. 2018 [93]	schwere CDI (n=21) milde CDI (n=35)	* *	ns ²				CSI - Score

Tabelle 9: Calprotectin und CDI-Schweregrade (eigene Darstellung)

* Daten in der Studie nicht gezeigt.

² ns = nicht signifikant

3.5 Calprotectin bei Toxin pos. vs. Toxin neg. CDI

In den ausgewählten Studien beschäftigen sich zwei Arbeiten mit der Aussagekraft der fäkalen Calprotectinwerte bei Toxin positiven und Toxin negativen CDI. Beide Untersuchungen weisen einen höheren fäkalen Calprotectinwert bei Patient*innen, welche einen Toxin positiven C. diff.-Nachweis im Stuhl hatten, verglichen zur Gruppe mit Patient*innen, welche einen Toxin negativen C. diff.-Nachweis im Stuhl hatten, nach. Die Studien bewegen sich beide im Bereich der statistischen Signifikanzgrenze von 5%, wobei die Berechnungen von Barbut et al. 2017 [95] knapp darüber liegen. In der zweiten Studie von He et al. 2018 [100] werden ausschließlich Patient*innen untersucht, welche an einer Krebserkrankung leiden.

Autor*innen	Gruppen	Calprotectin µg/g, Median	p-Wert
Barbut et al. 2017 [95]	Toxin pos. CDI (n= 87)	274,0	0,051
	Toxin neg. CDI (n=48)	166,0	
He et al 2018 [100]	Toxin pos. CDI (n = 24)	200,2	0,044
	Toxin neg. CDI (n = 86)	182,8	

Tabelle 10: Calprotectin bei Toxin pos. vs. Toxin neg. CDI (eigene Darstellung)

3.6 Calprotectin und Therapieansprechen bei CDI

In den ausgewählten Arbeiten beschäftigen sich drei mit dem Zusammenhang der fäkalen Calprotectinwerte und dem Therapieansprechen.

A. Gallo et al. 2018 [93] vergleichen Proband*innen, welche nach sieben Tagen eine Verbesserung der Diarrhoe oder Heilung berichten und Proband*innen, die keine Verbesserung berichten. Es werden jeweils die gemessenen fäkalen Calprotectinwerte an Tag null und Tag sieben miteinander verglichen. Bei den Messungen an Tag null kann zwar eine Tendenz, jedoch keine statistische Signifikanz dafür gezeigt werden, dass Proband*innen, welche nach sieben Tagen kein Therapieansprechen zeigen, einen höheren fäkalen Calprotectinwert an Tag null vorweisen. Es kann hingegen ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen Messungen der fäkalen Calprotectinwerte der beiden Gruppen an Tag sieben gezeigt werden. Hier zeigt die Gruppe ohne Therapieansprechen höhere Werte.

A. Gallo et al. 2020 [94] untersuchen Patient*innen, welche an einem Rezidiv einer CDI erkrankt sind. In dieser Arbeit kann gezeigt werden, dass Patient*innen, welche mehrere FMTs benötigen, bereits an Tag null einen statistisch signifikant höheren fäkalen

Calprotectinwert aufweisen, als Patient*innen, welche lediglich eine FMT benötigen. Keine Signifikanz, jedoch eine Tendenz kann dafür gezeigt werden, dass Patient*innen, welche als „Responder“ klassifiziert werden, verglichen zu „Non-Respondern“ einen niedrigeren fäkalen Calprotectinwert aufweisen. Als „Responder“ werden Patient*innen klassifiziert, die acht Wochen nach FMT keine Diarrhoe mehr berichten.

Hibbard et al. 2019 [101] untersuchen ebenfalls Patient*innen, die an einem Rezidiv einer CDI erkrankt sind. Die Forschungsgruppe zeigt, dass Patient*innen mit fehlgeschlagener FMT die Tendenz aufweisen, einen erhöhten fäkalen Calprotectinwert gegenüber Patient*innen mit erfolgreicher FMT zu haben. Außerdem zeigt sich eine Tendenz, dass sieben Tage nach FMT Patient*innen nach erfolgloser FMT, verglichen mit der Gruppe nach erfolgreicher FMT einen höheren fäkalen Calprotectinwert aufweisen.

Autor*innen	Gruppen	Calprotectin, Median	p-Wert
A. Gallo et al. 2018 [93]	kein Therapieansprechen nach 7 Tagen (n=10)	T0 ⁰ : 439 µg/g	*ns
	Therapieansprechen (n=33)	T0: 320 µg/g	
	kein Therapieansprechen nach 7 Tagen (n=10)	T7 ¹ : 285,5 µg/g	<0,05
	Therapieansprechen (n=33)	T7: 150,7 µg/g	
A. Gallo et al. 2020 [94]	FMT ² einmalig benötigt (n=17)	T0: 290 µg/g	<0,05
	FMT mehrfach benötigt (n=11)	T0: 540 µg/g	
	"Responder" (n=23)	T0: 298,8 µg/g	0,07
	"Non-Responder" (n=5)	T0: 620 µg/g	
Hibbard et al. 2019 [101]	FMT erfolglos (n=8)	T-2: 56,8 ng/ml	0,2591
	FMT erfolgreich (=97)	T-2: 42,3 ng/ml	
	FMT erfolglos (n=8)	T7: 299,3 ng/ml	0,0673
	FMT erfolgreich (=97)	T7: 43,7 ng/ml	
*ns = nicht signifikant			
°T0 = Messung an Tag 0			
¹T7 = Messung nach 7 Tagen / 7 Tage nach FMT			
²FMT=Fäkale Mikrobiota-Transplantation			

Tabelle 11: Calprotectin und Therapieansprechen bei CDI (eigene Darstellung)

3.7 Calprotectin bei CDI-Rückfällen

Es finden sich in vier arbeiten Untersuchungen der fäkalen Calprotectinwerte in Bezug auf spätere Krankheitsrückfälle. In allen vier Studien kann in der Gruppe der späteren

Krankheitsrückfälle ein erhöhter fäkaler Calprotectinwert gemessen werden, eine statistische Signifikanz zeigt sich jedoch lediglich in drei Studien. Fernández et al. 2023 [97] haben außerdem einen optimalen Cut-off Wert für Patient*innen mit späteren Rückfällen berechnet. Dieser liegt bei 1052 µg/g bei einer Sensitivität und Spezifität von 78,6% und 60,9%. Die AUC liegt dabei bei 0,686.

Zu beachten ist, dass Nicholson et al. 2017 [105] lediglich Kinder in ihre Studie eingeschlossen haben.

Autor*innen	Gruppen	Calprotectin µg/g, T0 Median	P-Wert
A. Gallo et al. 2018 [93]	kein Rückfall (n=33)	329	ns*
	Rückfall (3 Mo) (n=7)	444	
Fernández et al. 2023 [97]	kein Rückfall (n=152)	686,5	0,022
	Rückfall (8 Wo.) (n=14)	1654	
Nicholson et al. 2017 [105]	kein Rückfall (n=19)	8,6	0,38
	Rückfall (n=8)	14,4	
Vázquez-Cuesta et al. 2023 [111]	kein Rückfall (n=128)	92,91	0,01
	Rückfall (n=51)	150,36	
ns = nicht signifikant			

Tabelle 12: Calprotectin bei CDI-Rückfällen (eigene Darstellung)

3.8 Calprotectin und Todesfälle bei CDI

Drei Studien widmen sich der Untersuchung von Todesfällen bei CDI und den fäkalen Calprotectinwerten in diesen Patient*innengruppen. Es können zwar jeweils erhöhte Werte in den Gruppen der Todesfälle nachgewiesen werden, diese sind jedoch in keiner Studie statistisch signifikant.

Autor*innen	Gruppen	Calprotectin µg/g, Median	P-Wert
A. Gallo et al. 2018 [93]	überlebt nach 3 Mo. (n=33)	329	ns*
	Tod zw. 1 Wo. - 3 Mo. (n=10)	391	
M. Drózdź et al. 2019 [104]	überlebende nach 22 T. (n=63)	727	0,27
	CDI-bezogene Todesfälle nach 2 T. (n=13)	772	
Swale et al. 2014 [110]	überlebt nach 30 T. (n=145)	-	0,5
	Tod nach 30 T. (n=14)	-	

Tabelle 13: Calprotectin und Todesfälle bei CDI (eigene Darstellung)

4 Diskussion

In dieser Arbeit wurde der Frage nachgegangen, welchen Einfluss die Einnahme von Antibiotika auf inflammatorische Stuhlmarker hat. Im Kapitel 1.1 „Antibiotika und Diarrhoe“ erfolgte der Überblick über das Symptom AAD, danach fand im Kapitel 1.2. „Inflammatorische Stuhlmarker“ eine intensive Auseinandersetzung mit den verfügbaren Stuhlmarkern, allen voran Calprotectin statt. Im 2. Teil der Arbeit wurde ein systematischer Literaturreview durchgeführt, mit dem Ziel alle Arbeiten in Bezug auf Calprotectin und AAD herauszufiltern. Die gefundenen und gefilterten Arbeiten wurden schließlich inhaltlich analysiert, kategorisiert und in den Ergebnissen dargestellt. In der Diskussion sollen abschließend anhand der Ergebnisse die Forschungsfragen beantwortet werden.

Für die erste Forschungsfrage „*welche Rolle spielt die fäkale Calprotectinbestimmung bei der AAD?*“ können mehrere Studien gefunden werden. Auffällig ist, dass der Fokus dabei immer auf der CDI liegt. Die non-CDI AAD wird hierbei lediglich am Rande beleuchtet.

Alle in dieser Arbeit behandelten Studien, die sich mit dem Vergleich von CDI und non-CDI AAD beschäftigen, legen mit hoher statistischer Signifikanz nahe, dass eine Differenzierung mithilfe des fäkalen Calprotectins gelingen kann, da CDI Patient*innen ein erhöhtes fäkales Calprotectin aufweisen. Bei den non-CDI AAD Patient*innen liegt hingegen der fäkale Calprotectinwert im Normbereich. Dies könnte auch der Grund sein, warum es keine weiteren Untersuchungen mit non-CDI AAD Proband*innen gibt, denn es ergeben sich in den gezeigten Untersuchungen keine Hinweise darauf, dass sich stichhaltige Ergebnisse im Sinne von veränderten fäkalen Calprotectinwerten in dieser Gruppe finden lassen. Zu beachten gilt es allerdings, dass diese Studien jeweils nur kleine Fallzahlen aufweisen, wodurch beispielsweise Erkrankungen mit geringer Inzidenz hier möglicherweise nicht berücksichtigt werden. Man kann etwa annehmen, dass die AAHC, welche durch *K. oxytoca* ausgelöst wird und ebenfalls zu der non-CDI AAD gezählt werden kann, sehr wohl einen fäkalen Calprotectinanstieg verursacht, da es sich dabei um entzündliche Aktivität im Darm handelt. Dieser Umstand wurde in den vorliegenden Arbeiten nicht berücksichtigt. Es wären also sehr große Studien notwendig, um auch Erkrankungen mit geringer Inzidenz zu erfassen. Außerdem muss erwähnt werden, dass die Proband*innen der betrachteten Studien alle hospitalisiert waren. Es bestehen diesbezüglich also keine Unterschiede zwischen den Gruppen der CDI und non-CDI AAD, was positiv hervorzuheben ist. Zu Bedenken gilt es hingegen, dass von diesen Studien nicht direkt aufs ambulante Setting geschlossen werden sollte. Dies müsste in weiteren Studien separat untersucht werden. Die Definition einer AAD

wurde in den Untersuchungen nicht einheitlich festgelegt. Während teilweise eindeutige Definitionen der AAD vorgegeben waren (≥ 3 flüssige Stühle pro Tag innerhalb 24h vor der Testung und kürzliche Verabreichung von Antibiotika), wurde der Einschluss in die Gruppe der AAD teilweise von Ärzten nach individuellem Ermessen durchgeführt. Dies könnte zu Unterschieden in der Gruppe der non-CDI AAD geführt haben.

Auch in der Differenzierung zwischen CDI und Diarrhoe aufgrund anderer Ursachen außerhalb der AAD, lassen sich signifikant höhere fäkale Calprotectinwerte in der Gruppe der CDI feststellen. Man kann somit festhalten, dass erhöhte fäkale Calprotectinwerte bei Diarrhoe jeglicher Genese auf eine CDI hinweisend sein könnten. Zu beachten gilt hierbei jedoch die hohe Varianz der medianen fäkalen Calprotectinwerte zwischen den einzelnen Studien. Dies könnte etwa auf die verschiedenen Test-Kits, welche für die fäkale Calprotectinmessung verwendet wurden, zurückzuführen sein. Außerdem finden sich teilweise kleine Stichprobengrößen, wodurch eine verfälschte Teststärke auftreten könnte. Außerdem wird in vier Studien versucht, mithilfe der fäkalen Calprotectinwerte zwischen CDI Diarrhoe und CDI Kolonisation zu unterscheiden. Zwei der Untersuchungen zeigen einen statistisch signifikant erhöhten fäkalen Calprotectinwert, die beiden anderen zeigen hierfür eine Tendenz, jedoch keine Signifikanz. Eine der beiden zuletzt genannten Studien weist jedoch sehr ungleich große Gruppen auf, wodurch das Ergebnis möglicherweise verfälscht wird. Weitere große prospektive Studien mit dieser Fragestellung wären notwendig, um eine endgültige Aussage zu tätigen. Dies wäre für die Praxis von besonderem Interesse, da Patient*innen, welche ein mit *C. diff.* besiedeltes Mikrobiom aufweisen, möglicherweise vorschnell eine CDI-Therapie erhalten, obwohl sie diese gar nicht benötigen.

Neben Studien, die fäkale Calprotectinwerte bei CDI und anderen Krankheitsbildern vergleichen, wurden bei der Literaturrecherche Untersuchungen gefunden, die sich mit Unterschieden der fäkalen Calprotectinwerte innerhalb des Krankheitsbildes CDI beschäftigen.

So kann etwa in einer Studie eine hohe Korrelation von hohen fäkalen Calprotectinwerten zu späteren Komplikationen bei CDI gezeigt werden. Dieses Ergebnis müsste jedoch durch weitere Untersuchungen bestätigt werden, um eine höhere Aussagekraft zu erreichen.

Der Zusammenhang von fäkalen Calprotectinwerten und CDI-Schweregrad wird in den analysierten Studien am häufigsten untersucht. Auch wenn eine Tendenz zu höheren fäkalen Calprotectinwerten in allen hier dargestellten Studien zu finden ist, finden sich jedoch nur

in sechs von neun Studien statistische Signifikanzen. Anzumerken ist außerdem, dass die Schweregradeinteilung mithilfe unterschiedlicher Scores erfolgt und teilweise unterschiedliche Gruppen hinsichtlich des Schweregrades verwendet werden. So werden beispielsweise milde-moderate CDI mit schwerer-fulminanter CDI, in einer anderen Untersuchung jedoch milde CDI mit moderater CDI verglichen. Kritisch anzumerken ist, dass in einigen Studien die verglichenen Gruppen sehr unterschiedliche Größen aufweisen. Außerdem finden sich in manchen Untersuchungen sehr kleine Stichprobengrößen, was zu verfälschten Ergebnissen führen könnte.

Neben dem Schweregrad werden fäkale Calprotectinwerte bei CDI mit und ohne Toxinproduktion verglichen. Diesbezüglich können lediglich zwei Studien gefunden werden. Beide Studien zeigen eine Tendenz für höhere fäkale Calprotectinwerte bei Toxin positiver CDI, die statistische Signifikanz ist jedoch nur bei einer der beiden Untersuchung gegeben. Die Tendenz ist also dahingehend gegeben, dass mithilfe fäkaler Calprotectinmessungen zwischen Toxin positiver CDI und Diarrhoe aufgrund anderer Ursache, wo jedoch möglicherweise eine *C. diff.* Besiedelung vorliegt, unterschieden werden könnte.

Drei der ausgewählten Studien beschäftigen sich mit Calprotectin und Therapieansprechen bei CDI, um einerseits herauszufinden, ob fäkale Calprotectinwerte vor Therapiestart eine Aussagekraft auf das Therapieansprechen haben und andererseits einen Therapierfolg messbar machen können. Eine Untersuchung legt nahe, dass fäkale Calprotectinmessungen ein Therapieansprechen nach sieben Tagen zeigen können. Das bedeutet auch, dass ein erhöhtes fäkales Calprotectin nach einer Therapie eine nicht ausreichende Wirkung dieser zeigen könnte. Gleichzeitig zeigt die Studie, dass der fäkale Calprotectinwert bei Diagnosestellung keine verlässliche Aussagekraft über das spätere Therapieansprechen hat. Es ist jedoch eine Tendenz zu erkennen, dass Patient*innen mit höheren fäkalen Calprotectinwerten bei Therapiebeginn schlechter auf die Therapie ansprechen. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass erhöhte fäkale Calprotectinwerte auf eine schwerere Erkrankung hinweisen und damit möglicherweise ein schlechteres Therapieansprechen einhergeht. Aufgrund der kleinen Gruppengröße sollten diese Aussagen jedenfalls in weiteren Studien bestätigt oder widerlegt werden. Die anderen beiden Studien bezüglich des Therapieansprechens beschäftigen sich mit der Verwendung von FMT bei CDI-Rückfällen. Aus den Ergebnissen lässt sich der Schluss ziehen, dass Patient*innen mit höheren fäkalen Calprotectinwerten möglicherweise mehrere FMTs benötigen werden und bei niedrigen fäkalen Calprotectinwerten möglicherweise eine FMT ausreichend sein wird. Optimale Cut-

off-Werte für diese Thematik wurden leider nicht berechnet. Außerdem ist die Teilnehmeranzahl in dieser Studie viel zu klein, um eine sichere Aussage treffen zu können. Bezüglich der Aussagekraft der fäkalen Calprotectinwerte zur Prognose von CDI-Rückfällen ist die Studienlage uneindeutig mit Tendenz zu höheren Werten bei Patient*innen mit späteren Krankheitsrückfällen.

Abschließend können drei Studien gefunden werden, die sich mit dem Zusammenhang von fäkalen Calprotectinwerten und späteren Todesfällen beschäftigen. In keiner der Studien kann ein Zusammenhang festgestellt werden. Zu beachten ist auch hier die Varianz der Stichprobengröße.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die fäkale Calprotectinmessung zur Differenzierung zwischen CDI und non-CDI AAD, sowie zur Differenzierung zu anderen Ursachen einer Diarrhoe eingeschränkt genutzt werden kann. Zur Unterscheidung von manifester CDI und asymptomatischer C. diff. Kolonisation kann der fäkale Calprotectinwert nicht uneingeschränkt herangezogen werden, auch wenn eine starke Tendenz für die Aussagekraft von fäkalen Calprotectinwerten zu sehen ist.

Bezogen auf die CDI können folgende Schlussfolgerungen getroffen werden: Der fäkale Calprotectinwert weist einen Zusammenhang zu auftretenden Komplikationen und dem CDI-Schweregrad auf. Bezüglich C. diff. mit Toxinproduktion, CDI-Rückfällen und dem messbaren Therapieerfolg sind starke Tendenzen für eine Aussagekraft fäkaler Calprotectinwerte festzustellen. Die Rolle des Wertes zur Vorhersagekraft für späteres Therapieansprechen ist fraglich. Ein Zusammenhang von hohen fäkalen Calprotectinwerten und CDI-bezogenen Todesfällen besteht nicht.

Besonders in den Themenbereichen fäkales Calprotectin bei CDI vs. non-CDI AAD, Komplikationen bei CDI und C. diff. mit Toxinproduktion ist die Studienlage sehr limitiert. Hier bestünde Bedarf für die Durchführung weiterer größerer Studien. Insgesamt muss jedoch festgehalten werden, dass alle oben genannten Studien sehr rezent sind, daraus ist zu schließen, dass dieses Forschungsthema ein aktuelles ist und sicherlich bald weitere Studien folgen werden.

Zur Beantwortung der zweiten Forschungsfrage „*welche Rolle spielt die fäkale Calprotectinbestimmung nach Antibiotikaeinnahme ohne Diarrhoe?*“ können bei der systematischen Literaturrecherche hingegen keine passenden Untersuchungen gefunden werden. Wie oben gezeigt, liegt der mediane fäkale Calprotectinwert bei der Gruppe der

non-CDI AAD im Bereich des Normwerts, daraus könnte man ableiten, dass der Wert auch bei Patient*innen ohne Diarrhoe keine wesentlichen Auslenkungen zeigt. Dennoch wäre es interessant zu untersuchen, ob bei manchen Patient*innen, die später eine CDI entwickeln, bereits im Vorfeld eine subklinische Entzündung vorhanden ist, welche durch fäkale Calprotectinmessungen festgestellt werden könnte. Hierfür müssten große Kohortenstudien mit Patient*innen ohne Diarrhoe nach Antibiotikaeinnahme durchgeführt werden, welche mehrere Messpunkte beinhalten müssten.

Literaturverzeichnis

1. DuPont HL. Acute infectious diarrhea in immunocompetent adults. *N Engl J Med.* 2014;370:1532–40. doi:10.1056/NEJMra1301069.
2. Alam S, Mushtaq M. Antibiotic associated diarrhea in children. *Indian Pediatr.* 2009;46:491–6.
3. Bartlett JG. Clinical practice. Antibiotic-associated diarrhea. *N Engl J Med.* 2002;346:334–9. doi:10.1056/nejmcp011603.
4. Red. Serges Verlag. *Medizin Lexikon Fachbegriffe.* Köln: Serges Medien; 2013.
5. Fukata M. *Colitis.* London: InTechOpen; 2012.
6. Layer P, Rosien U, editors. *Facharzt Gastroenterologie.* München, Deutschland: Elsevier; 2017.
7. Högenauer C, Langner C, Beubler E, Lippe IT, Schicho R, Gorkiewicz G, et al. *Klebsiella oxytoca* as a causative organism of antibiotic-associated hemorrhagic colitis. *N Engl J Med.* 2006;355:2418–26. doi:10.1056/NEJMoa054765.
8. van Prehn J, Reigadas E, Vogelzang EH, Bouza E, Hristea A, Guery B, et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: 2021 update on the treatment guidance document for *Clostridioides difficile* infection in adults. *Clin Microbiol Infect.* 2021;27 Suppl 2:S1-S21. doi:10.1016/j.cmi.2021.09.038.
9. Högenauer C, Hammer HF, Krejs GJ, Reisinger EC. Mechanisms and management of antibiotic-associated diarrhea. *Clin Infect Dis.* 1998;27:702–10. doi:10.1086/514958.
10. Reintam Blaser A, Deane AM, Fruhwald S. Diarrhoea in the critically ill. *Curr Opin Crit Care.* 2015;21:142–53. doi:10.1097/MCC.0000000000000188.
11. McFarland LV. Antibiotic-associated diarrhea: epidemiology, trends and treatment. *Future Microbiol.* 2008;3:563–78. doi:10.2217/17460913.3.5.563.
12. Wiström J, Norrby SR, Myhre EB, Eriksson S, Granström G, Lagergren L, et al. Frequency of antibiotic-associated diarrhoea in 2462 antibiotic-treated hospitalized patients: a prospective study. *J Antimicrob Chemother.* 2001;47:43–50. doi:10.1093/jac/47.1.43.
13. Lübbert C, Zimmermann L, Borchert J, Hörner B, Mutters R, Rodloff AC. Epidemiology and Recurrence Rates of *Clostridium difficile* Infections in Germany: A Secondary Data Analysis. *Infect Dis Ther.* 2016;5:545–54. doi:10.1007/s40121-016-0135-9.
14. Suetens C, Latour K, Kärki T, Ricchizzi E, Kinross P, Moro ML, et al. Prevalence of healthcare-associated infections, estimated incidence and composite antimicrobial

- resistance index in acute care hospitals and long-term care facilities: results from two European point prevalence surveys, 2016 to 2017. *Euro Surveill* 2018. doi:10.2807/1560-7917.ES.2018.23.46.1800516.
15. Rodriguez C, Korsak N, Taminiau B, Avesani V, van Broeck J, Delmée M, Daube G. Clostridium difficile infection in elderly nursing home residents. *Anaerobe*. 2014;30:184–7. doi:10.1016/j.anaerobe.2014.08.007.
 16. Silverman MA, Konnikova L, Gerber JS. Impact of Antibiotics on Necrotizing Enterocolitis and Antibiotic-Associated Diarrhea. *Gastroenterol Clin North Am*. 2017;46:61–76. doi:10.1016/j.gtc.2016.09.010.
 17. Nasiri MJ, Goudarzi M, Hajikhani B, Ghazi M, Goudarzi H, Pouriran R. Clostridioides (Clostridium) difficile infection in hospitalized patients with antibiotic-associated diarrhea: A systematic review and meta-analysis. *Anaerobe*. 2018;50:32–7. doi:10.1016/j.anaerobe.2018.01.011.
 18. Suttorp N, Möckel M, Siegmund B, Dietel M. *Harrisons: Innere Medizin*. 20th ed. Stuttgart: Thieme; 2020.
 19. Leitner E, Bozic M, Kienesberger S, Cosic A, Landt O, Högenauer C, Kessler HH. Improved diagnosis of antibiotic-associated haemorrhagic colitis (AAHC) in faecal specimens by a new qualitative real-time PCR assay detecting relevant toxin genes of *Klebsiella oxytoca sensu lato*. *Clin Microbiol Infect*. 2022;28:690–4. doi:10.1016/j.cmi.2021.09.017.
 20. Borriello SP, Larson HE, Welch AR, Barclay F, Stringer MF, Bartholomew BA. Enterotoxigenic Clostridium perfringens: a possible cause of antibiotic-associated diarrhoea. *Lancet*. 1984;1:305–7. doi:10.1016/s0140-6736(84)90359-3.
 21. Smith CJ, Bryant MP. Introduction to metabolic activities of intestinal bacteria. *Am J Clin Nutr*. 1979;32:149–57. doi:10.1093/ajcn/32.1.149.
 22. Ruppin H, Bar-Meir S, Soergel KH, Wood CM, Schmitt MG. Absorption of short-chain fatty acids by the colon. *Gastroenterology*. 1980;78:1500–7.
 23. Edwards CA, Duerden BI, Read NW. Effect of clindamycin on the ability of a continuous culture of colonic bacteria to ferment carbohydrate. *Gut*. 1986;27:411–7. doi:10.1136/gut.27.4.411.
 24. Rao SS, Edwards CA, Austen CJ, Bruce C, Read NW. Impaired colonic fermentation of carbohydrate after ampicillin. *Gastroenterology*. 1988;94:928–32. doi:10.1016/0016-5085(88)90549-5.

25. Clausen MR, Bonnén H, Tvede M, Mortensen PB. Colonic fermentation to short-chain fatty acids is decreased in antibiotic-associated diarrhea. *Gastroenterology*. 1991;101:1497–504. doi:10.1016/0016-5085(91)90384-w.
26. Hofmann AF. Bile acids, diarrhea, and antibiotics: data, speculation, and a unifying hypothesis. *J Infect Dis*. 1977;135 Suppl:S126-32. doi:10.1093/infdis/135.supplement.s126.
27. Vincent C, Manges AR. Antimicrobial Use, Human Gut Microbiota and *Clostridium difficile* Colonization and Infection. *Antibiotics (Basel)*. 2015;4:230–53. doi:10.3390/antibiotics4030230.
28. Theriot CM, Bowman AA, Young VB. Antibiotic-Induced Alterations of the Gut Microbiota Alter Secondary Bile Acid Production and Allow for *Clostridium difficile* Spore Germination and Outgrowth in the Large Intestine. *mSphere* 2016. doi:10.1128/mSphere.00045-15.
29. Otterson MF, Sarna SK. Gastrointestinal motor effects of erythromycin. *Am J Physiol*. 1990;259:G355-63. doi:10.1152/ajpgi.1990.259.3.G355.
30. Dobbins WO, Herrero BA, Mansbach CM. Morphologic alterations associated with neomycin induced malabsorption. *Am J Med Sci*. 1968;255:63–77. doi:10.1097/00000441-196801000-00011.
31. McFarland LV. Epidemiology, risk factors and treatments for antibiotic-associated diarrhea. *Dig Dis*. 1998;16:292–307. doi:10.1159/000016879.
32. Sloan LM, Duresko BJ, Gustafson DR, Rosenblatt JE. Comparison of real-time PCR for detection of the *tdcC* gene with four toxin immunoassays and culture in diagnosis of *Clostridium difficile* infection. *J Clin Microbiol*. 2008;46:1996–2001. doi:10.1128/JCM.00032-08.
33. Crobach MJT, Planche T, Eckert C, Barbut F, Terveer EM, Dekkers OM, et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the diagnostic guidance document for *Clostridium difficile* infection. *Clin Microbiol Infect*. 2016;22 Suppl 4:S63-81. doi:10.1016/j.cmi.2016.03.010.
34. Furuya-Kanamori L, Marquess J, Yakob L, Riley TV, Paterson DL, Foster NF, et al. Asymptomatic *Clostridium difficile* colonization: epidemiology and clinical implications. *BMC Infect Dis*. 2015;15:516. doi:10.1186/s12879-015-1258-4.
35. Reisinger EC, Lademann M, Krause R. Antibiotika-assoziierte Diarrhoe. [Antibiotic-associated diarrhea]. *Dtsch Med Wochenschr*. 2004;129 Suppl 2:S111-3. doi:10.1055/s-2004-831390.

36. Hoffmann KM, Deutschmann A, Weitzer C, Joainig M, Zechner E, Högenauer C, Hauer AC. Antibiotic-associated hemorrhagic colitis caused by cytotoxin-producing *Klebsiella oxytoca*. *Pediatrics*. 2010;125:e960-3. doi:10.1542/peds.2009-1751.
37. Ayling RM, Kok K. Fecal Calprotectin. *Adv Clin Chem*. 2018;87:161–90. doi:10.1016/bs.acc.2018.07.005.
38. Jukic A, Bakiri L, Wagner EF, Tilg H, Adolph TE. Calprotectin: from biomarker to biological function. *Gut*. 2021;70:1978–88. doi:10.1136/gutjnl-2021-324855.
39. Andersson KB, Sletten K, Berntzen HB, Dale I, Brandtzaeg P, Jellum E, Fagerhol MK. The leucocyte L1 protein: identity with the cystic fibrosis antigen and the calcium-binding MRP-8 and MRP-14 macrophage components. *Scand J Immunol*. 1988;28:241–5. doi:10.1111/j.1365-3083.1988.tb02437.x.
40. Røseth AG, Fagerhol MK, Aadland E, Schjønsby H. Assessment of the neutrophil dominating protein calprotectin in feces. A methodologic study. *Scand J Gastroenterol*. 1992;27:793–8. doi:10.3109/00365529209011186.
41. Tøn H, Brandsnes Ø, Dale S, Holtlund J, Skuibina E, Schjønsby H, John B. Improved assay for fecal calprotectin. *Clinica Chimica Acta*. 2000;292:41–54. doi:10.1016/S0009-8981(99)00206-5.
42. Bello C, Roseth A, Guardiola J, Reenaers C, Ruiz-Cerulla A, van Kemseke C, et al. Usability of a home-based test for the measurement of fecal calprotectin in asymptomatic IBD patients. *Dig Liver Dis*. 2017;49:991–6. doi:10.1016/j.dld.2017.05.009.
43. Whitehead SJ, French J, Brookes MJ, Ford C, Gama R. Between-assay variability of faecal calprotectin enzyme-linked immunosorbent assay kits. *Ann Clin Biochem*. 2013;50:53–61. doi:10.1258/acb.2012.011272.
44. Oyaert M, an Boel, Jacobs J, van den Bremt S, Sloovere M de, Vanpoucke H, van Hoovels L. Analytical performance and diagnostic accuracy of six different faecal calprotectin assays in inflammatory bowel disease. *Clin Chem Lab Med*. 2017;55:1564–73. doi:10.1515/cclm-2016-1012.
45. Poullis A, Foster R, Shetty A, Fagerhol MK, Mendall MA. Bowel inflammation as measured by fecal calprotectin: a link between lifestyle factors and colorectal cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2004;13:279–84. doi:10.1158/1055-9965.epi-03-0160.

46. Konikoff MR, Denson LA. Role of fecal calprotectin as a biomarker of intestinal inflammation in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2006;12:524–34. doi:10.1097/00054725-200606000-00013.
47. Kolho K-L, Alftan H. Concentration of fecal calprotectin in 11,255 children aged 0-18 years. *Scand J Gastroenterol*. 2020;55:1024–7. doi:10.1080/00365521.2020.1794026.
48. Joshi S, Lewis SJ, Creanor S, Ayling RM. Age-related faecal calprotectin, lactoferrin and tumour M2-PK concentrations in healthy volunteers. *Ann Clin Biochem*. 2010;47:259–63. doi:10.1258/acb.2009.009061.
49. Rassow J, Hauser K, Netzker R, Deutzmann R. *Biochemie: 855 Abbildungen*. 4th ed. Stuttgart: Thieme; 2016.
50. Lasson A, Stotzer P-O, Öhman L, Isaksson S, Sapnara M, Strid H. The intra-individual variability of faecal calprotectin: a prospective study in patients with active ulcerative colitis. *J Crohns Colitis*. 2015;9:26–32. doi:10.1016/j.crohns.2014.06.002.
51. Reenaers C, Bossuyt P, Hindryckx P, Vanpoucke H, Cremer A, Baert F. Expert opinion for use of faecal calprotectin in diagnosis and monitoring of inflammatory bowel disease in daily clinical practice. *United European Gastroenterol J*. 2018;6:1117–25. doi:10.1177/2050640618784046.
52. Calafat M, Cabré E, Mañosa M, Lobatón T, Marín L, Domènech E. High within-day variability of fecal calprotectin levels in patients with active ulcerative colitis: what is the best timing for stool sampling? *Inflamm Bowel Dis*. 2015;21:1072–6. doi:10.1097/MIB.0000000000000349.
53. Kristensen V, Malmstrøm GH, Skar V, Røseth A, Moum B. Clinical importance of faecal calprotectin variability in inflammatory bowel disease: intra-individual variability and standardisation of sampling procedure. *Scand J Gastroenterol*. 2016;51:548–55. doi:10.3109/00365521.2015.1117650.
54. Dumoulin EN, van Biervliet S, Langlois MR, Delanghe JR. Proteolysis is a confounding factor in the interpretation of faecal calprotectin. *Clin Chem Lab Med*. 2015;53:65–71. doi:10.1515/cclm-2014-0568.
55. Haisma S-M, van Rheenen PF, Wagenmakers L, Muller Kobold A. Calprotectin instability may lead to undertreatment in children with IBD. *Arch Dis Child*. 2020;105:996–8. doi:10.1136/archdischild-2018-316584.
56. Oyaert M, van den Breemt S, an Boel, Bossuyt X, van Hoovels L. Do not forget about pre-analytics in faecal calprotectin measurement! *Clin Chim Acta*. 2017;473:124–6. doi:10.1016/j.cca.2017.08.025.

57. Maiden L, Thjodleifsson B, Theodors A, Gonzalez J, Bjarnason I. A quantitative analysis of NSAID-induced small bowel pathology by capsule enteroscopy. *Gastroenterology*. 2005;128:1172–8. doi:10.1053/j.gastro.2005.03.020.
58. Tibble JA, Sigthorsson G, Foster R, Scott D, Fagerhol MK, Roseth A, Bjarnason I. High prevalence of NSAID enteropathy as shown by a simple faecal test. *Gut*. 1999;45:362–6. doi:10.1136/gut.45.3.362.
59. Ricciuto A, Griffiths AM. Clinical value of fecal calprotectin. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2019;56:307–20. doi:10.1080/10408363.2019.1619159.
60. Lundgren D, Eklöf V, Palmqvist R, Hultdin J, Karling P. Proton pump inhibitor use is associated with elevated faecal calprotectin levels. A cross-sectional study on subjects referred for colonoscopy. *Scand J Gastroenterol*. 2019;54:152–7. doi:10.1080/00365521.2019.1566493.
61. Vesper BJ, Jawdi A, Altman KW, Haines GK, Tao L, Radosevich JA. The effect of proton pump inhibitors on the human microbiota. *Curr Drug Metab*. 2009;10:84–9. doi:10.2174/138920009787048392.
62. Jackson MA, Goodrich JK, Maxan M-E, Freedberg DE, Abrams JA, Poole AC, et al. Proton pump inhibitors alter the composition of the gut microbiota. *Gut*. 2016;65:749–56. doi:10.1136/gutjnl-2015-310861.
63. Yousefi R, Imani M, Ardestani SK, Saboury AA, Gheibi N, Ranjbar B. Human calprotectin: effect of calcium and zinc on its secondary and tertiary structures, and role of pH in its thermal stability. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2007;39:795–802. doi:10.1111/j.1745-7270.2007.00343.x.
64. Vavricka SR, Heinrich H, Buetikofer S, Breitenmoser F, Burri E, Schneider-Yin X, et al. The Vampire Study: Significant elevation of faecal calprotectin in healthy volunteers after 300 ml blood ingestion mimicking upper gastrointestinal bleeding. *United European Gastroenterol J*. 2018;6:1007–14. doi:10.1177/2050640618774416.
65. D'Amico F, Rubin DT, Kotze PG, Magro F, Siegmund B, Kobayashi T, et al. International consensus on methodological issues in standardization of fecal calprotectin measurement in inflammatory bowel diseases. *United European Gastroenterol J*. 2021;9:451–60. doi:10.1002/ueg2.12069.
66. Abraham BP, Kane S. Fecal markers: calprotectin and lactoferrin. *Gastroenterol Clin North Am*. 2012;41:483–95. doi:10.1016/j.gtc.2012.01.007.
67. Abraham BP. Fecal Lactoferrin Testing. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*. 2018;14:713–6.

68. Yamamoto T, Shiraki M, Bamba T, Umegae S, Matsumoto K. Fecal calprotectin and lactoferrin as predictors of relapse in patients with quiescent ulcerative colitis during maintenance therapy. *Int J Colorectal Dis.* 2014;29:485–91. doi:10.1007/s00384-013-1817-3.
69. Magro F, Gionchetti P, Eliakim R, Ardizzone S, Armuzzi A, Barreiro-de Acosta M, et al. Third European Evidence-based Consensus on Diagnosis and Management of Ulcerative Colitis. Part 1: Definitions, Diagnosis, Extra-intestinal Manifestations, Pregnancy, Cancer Surveillance, Surgery, and Ileo-anal Pouch Disorders. *Journal of Crohn's and Colitis.* 2017;11:649–70. doi:10.1093/ecco-jcc/jjx008.
70. D'Inca R, Dal Pont E, Di Leo V, Ferronato A, Fries W, Vettorato MG, et al. Calprotectin and lactoferrin in the assessment of intestinal inflammation and organic disease. *Int J Colorectal Dis.* 2007;22:429–37. doi:10.1007/s00384-006-0159-9.
71. österreichische Gesundheitskasse. 1. Richtlinien zum Laborkatalog 2022.
72. Schoepfer A, Reinisch W. Serial Fecal Calprotectin and Lactoferrin Measurements for Early Diagnosis of Pouchitis After Proctocolectomy for Ulcerative Colitis: Is Pouchoscopy No Longer Needed? *Am J Gastroenterol.* 2015;110:888–90. doi:10.1038/ajg.2015.170.
73. Sutherland AD, Geary RB, Frizelle FA. Review of fecal biomarkers in inflammatory bowel disease. *Dis Colon Rectum.* 2008;51:1283–91. doi:10.1007/s10350-008-9310-8.
74. Meyers S, Wolke A, Field SP, Feuer EJ, Johnson JW, Janowitz HD. Fecal alpha 1-antitrypsin measurement: an indicator of Crohn's disease activity. *Gastroenterology.* 1985;89:13–8. doi:10.1016/0016-5085(85)90739-5.
75. Biancone L, Fantini M, Tosti C, Bozzi R, Vavassori P, Pallone F. Fecal alpha 1-antitrypsin clearance as a marker of clinical relapse in patients with Crohn's disease of the distal ileum. *European journal of gastroenterology & hepatology.* 2003;15:261–6. doi:10.1097/00042737-200303000-00009.
76. Stange EF, Fellermann K, Gersemann M, Rothfuß KS, Steurer W. *Colitis ulcerosa - Morbus Crohn.* 6th ed. Bremen, London, Boston: UNI-MED Verlag AG; 2020.
77. Herold G. *Innere Medizin:* 2021. Berlin: De Gruyter; 2021.
78. Sipponen T, Kolho K-L. Fecal calprotectin in diagnosis and clinical assessment of inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol.* 2015;50:74–80. doi:10.3109/00365521.2014.987809.

79. Lin J-F, Chen J-M, Zuo J-H, Yu A, Xiao Z-J, Deng F-H, et al. Meta-analysis: fecal calprotectin for assessment of inflammatory bowel disease activity. *Inflamm Bowel Dis*. 2014;20:1407–15. doi:10.1097/MIB.000000000000057.
80. Louis E, Mary J-Y, Vernier-Massouille G, Grimaud J-C, Bouhnik Y, Laharie D, et al. Maintenance of remission among patients with Crohn's disease on antimetabolite therapy after infliximab therapy is stopped. *Gastroenterology*. 2012;142:63-70.e5; quiz e31. doi:10.1053/j.gastro.2011.09.034.
81. Lovell RM, Ford AC. Global prevalence of and risk factors for irritable bowel syndrome: a meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2012;10:712-721.e4. doi:10.1016/j.cgh.2012.02.029.
82. Khaki-Khatibi F, Qujeq D, Kashifard M, Moein S, Maniati M, Vaghari-Tabari M. Calprotectin in inflammatory bowel disease. *Clin Chim Acta*. 2020;510:556–65. doi:10.1016/j.cca.2020.08.025.
83. Waugh N, Cummins E, Royle P, Kandala N-B, Shyangdan D, Arasaradnam R, et al. Faecal calprotectin testing for differentiating amongst inflammatory and non-inflammatory bowel diseases: systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess*. 2013;17:xv-xix, 1-211. doi:10.3310/hta17550.
84. Limburg PJ, Ahlquist DA, Sandborn WJ, Mahoney DW, Devens ME, Harrington JJ, Zinsmeister AR. Fecal calprotectin levels predict colorectal inflammation among patients with chronic diarrhea referred for colonoscopy. *Am J Gastroenterol*. 2000;95:2831–7. doi:10.1111/j.1572-0241.2000.03194.x.
85. Wildt S, Nordgaard-Lassen I, Bendtsen F, Rumessen JJ. Metabolic and inflammatory faecal markers in collagenous colitis. *European journal of gastroenterology & hepatology*. 2007;19:567–74. doi:10.1097/MEG.0b013e328058ed76.
86. Kim HJ. Efficacy of Fecal Calprotectin Combined With Stool Hemoglobin in Differentiating Bacterial Origin in Acute Gastroenteritis. *Pediatr Emerg Care*. 2022;38:e670-e673. doi:10.1097/PEC.0000000000002414.
87. Chen C-C, Huang J-L, Chang C-J, Kong M-S. Fecal calprotectin as a correlative marker in clinical severity of infectious diarrhea and usefulness in evaluating bacterial or viral pathogens in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012;55:541–7. doi:10.1097/MPG.0b013e318262a718.
88. Luley K, Noack F, Lehnert H, Homann N. Local calprotectin production in colorectal cancer and polyps--active neutrophil recruitment in carcinogenesis. *Int J Colorectal Dis*. 2011;26:603–7. doi:10.1007/s00384-011-1165-0.

89. Roon AC von, Karamountzos L, Purkayastha S, Reese GE, Darzi AW, Teare JP, et al. Diagnostic precision of fecal calprotectin for inflammatory bowel disease and colorectal malignancy. *Am J Gastroenterol.* 2007;102:803–13. doi:10.1111/j.1572-0241.2007.01126.x.
90. Turvill J, Aghahoseini A, Sivarajasingham N, Abbas K, Choudhry M, Polyzois K, et al. Faecal calprotectin in patients with suspected colorectal cancer: a diagnostic accuracy study. *Br J Gen Pract.* 2016;66:e499-506. doi:10.3399/bjgp16X685645.
91. Mowat C, Digby J, Strachan JA, Wilson R, Carey FA, Fraser CG, Steele RJC. Faecal haemoglobin and faecal calprotectin as indicators of bowel disease in patients presenting to primary care with bowel symptoms. *Gut.* 2016;65:1463–9. doi:10.1136/gutjnl-2015-309579.
92. Effenberger M, Grabherr F, Mayr L, Schwaerzler J, Nairz M, Seifert M, et al. Faecal calprotectin indicates intestinal inflammation in COVID-19. *Gut.* 2020;69:1543–4. doi:10.1136/gutjnl-2020-321388.
93. Gallo A, Vallone C, Sabatelli L, Ventura G, Covino M, Cammarota G, et al. Fecal calprotectin in management of *Clostridium difficile* infection: a longitudinal study. *Scand J Gastroenterol.* 2018;53:567–72. doi:10.1080/00365521.2017.1392598.
94. Gallo A, Cancelli C, Ceron E, Covino M, Capoluongo E, Pocino K, et al. Fecal calprotectin and need of multiple microbiota transplantation infusions in *Clostridium difficile* infection. *J Gastroenterol Hepatol.* 2020;35:1909–15. doi:10.1111/jgh.15072.
95. Barbut F, Gouot C, Lapidus N, Suzon L, Syed-Zaidi R, Lalande V, Eckert C. Faecal lactoferrin and calprotectin in patients with *Clostridium difficile* infection: a case-control study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2017;36:2423–30. doi:10.1007/s10096-017-3080-y.
96. Darkoh C, Turnwald BP, Koo HL, Garey KW, Jiang Z-D, Aitken SL, DuPont HL. Colonic immunopathogenesis of *Clostridium difficile* infections. *Clin Vaccine Immunol.* 2014;21:509–17. doi:10.1128/CVI.00770-13.
97. Ágreda Fernández M, Origüen J, Rodríguez-Goncer I, San Juan R, López-Medrano F, Parra P, et al. Predictive value of fecal calprotectin and lactoferrin levels for negative outcomes in *Clostridioides difficile* infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2023. doi:10.1007/s10096-023-04729-z.
98. Han S-H, Yi J, Kim J-H, Moon AH-W. Investigation of Intestinal Microbiota and Fecal Calprotectin in Non-Toxigenic and Toxigenic *Clostridioides difficile* Colonization and Infection. *Microorganisms* 2020. doi:10.3390/microorganisms8060882.

99. Hanania A, Jiang Z-D, Smiley C, Lasco T, Garey KW, DuPont HL. Fecal Calprotectin in the Diagnosis of *Clostridium difficile* Infection. *Infectious Diseases in Clinical Practice*. 2016;24:31–4. doi:10.1097/IPC.0000000000000312.
100. He T, Kaplan SE, Gomez LA, Lu X, Ramanathan LV, Kamboj M, Tang Y-W. Fecal calprotectin concentrations in cancer patients with *Clostridium difficile* infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2018;37:2341–6. doi:10.1007/s10096-018-3381-9.
101. Hibbard J, Jiang Z-D, DuPont HL. Fecal calprotectin and fecal indole predict outcome of fecal microbiota transplantation in subjects with recurrent *Clostridium difficile* infection. *Anaerobe*. 2019;56:102–5. doi:10.1016/j.anaerobe.2019.03.006.
102. Jieun K, Heejung K, Oh HJ, Kim HS, Hwang YJ, Yong D, et al. Fecal Calprotectin Level Reflects the Severity of *Clostridium difficile* Infection. *Ann Lab Med*. 2017;37:53–7. doi:10.3343/alm.2017.37.1.53.
103. Kelly CP, Chen X, Williams D, Xu H, Cuddemi CA, Daugherty K, et al. Host Immune Markers Distinguish *Clostridioides difficile* Infection From Asymptomatic Carriage and Non-*C. difficile* Diarrhea. *Clin Infect Dis*. 2020;70:1083–93. doi:10.1093/cid/ciz330.
104. Drózdź M, Biesiada G, Pituch H, Wultańska D, Obuch-Woszczatyński P, Piotrowski M, et al. The level of fecal calprotectin significantly correlates with *Clostridium difficile* infection severity. *Folia Med Cracov*. 2019;59:53–65. doi:10.24425/fmc.2019.131136.
105. Nicholson MR, Crews JD, Starke JR, Jiang Z-D, DuPont H, Edwards K. Recurrent *Clostridium difficile* Infection in Children: Patient Risk Factors and Markers of Intestinal Inflammation. *Pediatr Infect Dis J*. 2017;36:379–83. doi:10.1097/INF.0000000000001450.
106. Peretz A, Tkhawkho L, Pastukh N, Brodsky D, Halevi CN, Nitzan O. Correlation between fecal calprotectin levels, disease severity and the hypervirulent ribotype 027 strain in patients with *Clostridium difficile* infection. *BMC Infect Dis*. 2016;16:309. doi:10.1186/s12879-016-1618-8.
107. Popiel KY, Gheorghe R, Eastmond J, Miller MA. Usefulness of Adjunctive Fecal Calprotectin and Serum Procalcitonin in Individuals Positive for *Clostridium difficile* Toxin Gene by PCR Assay. *J Clin Microbiol*. 2015;53:3667–9. doi:10.1128/JCM.02230-15.
108. Rao K, Santhosh K, Mogle JA, Higgins PDR, Young VB. Elevated fecal calprotectin associates with adverse outcomes from *Clostridium difficile* infection in older adults. *Infect Dis (Lond)*. 2016;48:663–9. doi:10.1080/23744235.2016.1186832.

109. Suarez-Carantoña C, Rodriguez-Torres A, Viteri-Noel A, Pintado V, Garcia-Fernandez S, Mora-Pimentel D, et al. Usefulness of Fecal Calprotectin in the Management of Patients with Toxigenic *Clostridioides difficile*. *J Clin Med* 2021. doi:10.3390/jcm10081627.
110. Swale A, Miyajima F, Roberts P, Hall A, Little M, Beadsworth MJB, et al. Calprotectin and lactoferrin faecal levels in patients with *Clostridium difficile* infection (CDI): a prospective cohort study. *PLoS One*. 2014;9:e106118. doi:10.1371/journal.pone.0106118.
111. Vázquez-Cuesta S, Lozano García N, Fernández AI, Olmedo M, Kestler M, Alcalá L, et al. Microbiome profile and calprotectin levels as markers of risk of recurrent *Clostridioides difficile* infection. *Front Cell Infect Microbiol*. 2023;13:1237500. doi:10.3389/fcimb.2023.1237500.
112. Villafuerte Gálvez JA, Pollock NR, Alonso CD, Chen X, Xu H, Wang L, et al. Stool Interleukin-1 β Differentiates *Clostridioides difficile* Infection (CDI) From Asymptomatic Carriage and Non-CDI Diarrhea. *Clin Infect Dis*. 2023;76:e1467-e1475. doi:10.1093/cid/ciac624.
113. Voicu MN, Ahmet AM, Turcu-Stiolica A, Ungureanu BS, Dragoescu AN, Popescu F. *Clostridioides difficile* Infection Severity Assessment by Fecal Calprotectin: A Pilot Study. *Curr Health Sci J*. 2021;47:204–8. doi:10.12865/CHSJ.47.02.09.
114. Zar FA, Bakkanagari SR, Moorthi KMLST, Davis MB. A comparison of vancomycin and metronidazole for the treatment of *Clostridium difficile*-associated diarrhea, stratified by disease severity. *Clin Infect Dis*. 2007;45:302–7. doi:10.1086/519265.