

Management & Krankenhaus

Zeitung für Entscheider im Gesundheitswesen

GIT VERLAG

Clostridium-difficile-Diagnostik – altbekannt, aber immer aktuell

Das Sporen-bildende anaerobe Stäbchenbakterium *Clostridium difficile* gilt heutzutage als einer der wichtigsten Nosokomialkeime. Deswegen ist es bei nahezu allen Hygienefachtagungen sowie auch bei vielen infektiologisch orientierten Kongressen und diagnostischen Foren zu einem allgegenwärtigen Thema geworden.

Helmut Leidinger, Darmstadt

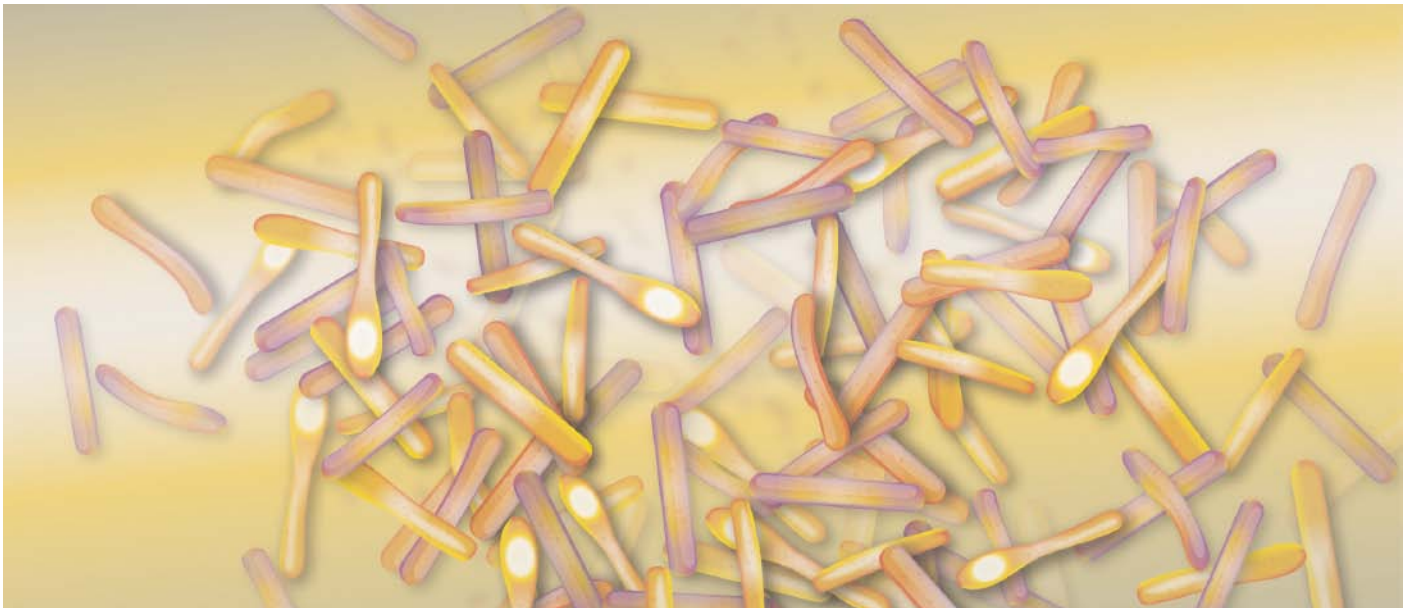
Die breite Präsenz in der Umwelt aufgrund der Fähigkeit zur Bildung sehr resistenter Sporen ist für *Clostridium difficile* und viele seiner Artgenossen die Grundlage für seine weite Verbreitung bei Mensch und Tier. Im Gegensatz zu den sehr widerstandsfähigen Sporen, ist die vegetative Vermehrungsform des strikt anaerob wachsenden Bakteriums sehr empfindlich gegenüber Sauerstoff. Schon eine kurze Einwirkzeit von Sauerstoff ist toxisch für die *Clostridium difficile* Zellen, weswegen der kulturelle Nachweis des Erregers der *Clostridium difficile* assoziierten Diarrhö (CDAD) aus Stuhlproben von an Durchfall erkrankten Personen entsprechende Anzuchtbedingungen und die Verwendung von Spezialnährböden erfordert.

Es sind überwiegend die Sporen des Erregers, die mit der Patientenprobe auf den Spezialnährboden gelangen, dort auskeimen und so eine weitere Vermehrung ermöglichen. Dies passiert während der 48-72 Stunden dauernden Kultivierung bei 35-37°C unter strikt anaeroben Bedingungen. Je mehr Sporen und vegetative Zellen mit dem Inokulat auf den Nährboden gelangen, umso schneller wächst der Erreger zu detektierbaren Kolonien heran. Sobald die Nährstoffe in der Anreicherungskultur zu Ende gehen, werden erneut Sporen als dauerhaft überlebensfähige Formen gebildet. Damit einher geht auch die Bildung und Freisetzung der beiden wichtigsten humanpathogenen Toxine von *Clostridium difficile*, die Toxine A und B.

Für die Diagnostik bedeutet dies, dass ein zu frühes Abernten von Kolonien, um daraus einen Toxinnachweis immunologisch oder auch in der Zytotoxischen Zellkultur durchzuführen, aufgrund noch nicht gebildeter Toxine fehlschlägt. Obwohl man einen toxischen Stamm vorliegen hat, fällt der Toxinnachweis negativ aus, da in der Kultur noch keine Sporulation und somit keine Toxinbildung und deren Freisetzung stattgefunden haben, zumindest in einer noch nicht detektierbaren Menge. Ähnlich verhält es sich in vivo im menschlichen Darm, wo je nach nutritiver Versorgung der *Clostridium-difficile*-Zellen die Sporulation und damit die Toxinbildung fortgeschritten sein kann. Da von der gebildeten Toxinmenge das Ausmaß und die Schwere einer *Clostridium-difficile*-Infektion (CDI) von asymptomatisch über milde Diarrhö mit und ohne Enterocolitis bis hin zur pseudomembranösen schweren Colitis und toxischem Megacolon abhängen, ist ein direkter Toxinnachweis aus der Stuhlprobe

mittels immunologischem Verfahren immer auch ein direktes Maß für die mengenmäßige Präsenz von *C. difficile* und das damit verbundene Ausmaß der Erkrankung. Aufgrund der zuverlässig hohen Spezifität des Direktnachweises können unmittelbar nach einem positiven Toxintest die notwendigen therapeutischen und hygienespezifischen Maßnahmen eingeleitet werden, insbesondere dann, wenn bei betreffenden Personen auch die klinischen Merkmale einer CDAD (bestehende oder vorangegangene Antibiose, mehr als drei wässrige Stühle pro Tag und Bauchkrämpfe) zutreffen.

Dass die Dosis der gebildeten Toxine entscheidend ist, hat insbesondere das Auftauchen des *C. difficile* Ribotyps 027 vor knapp 10 Jahren gezeigt. Durch genetisch bedingte Regulationsdefekte ist dieser Typ, neben mittlerweile einigen weiteren Ribotypen, in der Lage, 10- bis 20-fach höhere Toxinmengen zu bilden, als dies normalerweise der Fall ist. Ein Tatbestand, der den immunologischen Direktnachweisen entgegenkommt, indem gerade die „gefährlicheren“ Ribotypen noch sicherer erfasst werden. Eine Besiedlung mit solchen, in der Regulation der Toxinbildung defekten Ribotypen führte in den letzten Jahren zu einem starken Anstieg an CDAD erkrankter Personen und zu einem neuen Gefahrenpotential vor allem in Hospitälern und Altersheimen, wo neben sonst antibiotisch behandelten oder immunsupprimierten Menschen die am meisten gefährdeten Personen für eine CDI zu finden sind. Dies führte in der Folge zu erhöhter Vigilanz und Hygieneüberwachung in den betreffenden Institutionen. In der Diagnostik verstärkte sich das Bestreben, potentiell gefährliche Clostridien unter allen Umständen aufzuspüren. Hierfür mussten dann Methoden



her, die höchst sensitiv Clostridium difficile erfassen sollten. Man wollte nur irgendwie den Erreger aufspüren, ohne in gleichem Maße und in allen Fällen auch zu überprüfen, inwieweit der analytische Befund überhaupt von klinischer Relevanz ist und die untersuchten Personen die typischen Merkmale einer CDAD präsentierten. Es ist nun mal nicht beweisend für eine CDI und die daraus zwingend abzuleitenden Maßnahmen, wenn man bei einem Patienten mit Durchfall unter anderem auch genetisches Material von C. difficile nachweist oder wenn man nach vorheriger kultureller Anreicherung und Vermehrung von zunächst nur wenigen Keimen erst am Ende dann auch die pathognomisch bedeutenden Toxine (in der sog. toxischen Kultur) nachweist, die primär im direkten Toxinnachweis mangels Menge nicht gefunden werden konnten. Obwohl die Dosisabhängigkeit bei klinisch relevanter CDI lange bekannt ist und die seit mehr als zwei Jahrzehnten eingesetzten Direktnachweise weitgehend zuverlässig die dafür verantwortlichen Toxine A und B auch erfasst haben, wurde plötzlich allerhöchste

analytische Sensitivität gefordert. Angesichts der starken Verbreitung von C. difficile und einem ausgeprägten Kreis asymptomatischer Träger kristallisierten sich verschiedene, nicht einheitliche und von allen getragene, aber mittlerweile sehr kontrovers diskutierte neue Wege und Algorithmen in der Diagnostik von Clostridium difficile heraus.

Im Zuge des Einsatzes molekularbiologischer Methoden wie der PCR erlebten auch die seit vielen Jahren schon im Markt befindlichen, jedoch nicht stark beachteten immunologischen Nachweisteste für die zunächst nur Clostridien-spezifische Glutamatdehydrogenase (GDH) eine regelrechte Renaissance. Sie wurden nun in ihrer Spezifität hin zum spezifischen Nachweis der C.-difficile-spezifischen GDH verbessert und verstärkt propagiert.

Da das Enzym GDH in hoher Kopienzahl in der Zelle vorliegt, eignet sich ein solcher Nachweistest gut für ein Screening der Stuhlproben von Personen, die im Verdacht stehen, an einer CDI erkrankt zu sein. Fällt der Test negativ aus, so kann mit einer hohen Vorhersagesicherheit eine Beteiligung von C. difficile

ausgeschlossen werden. Im positiven Fall muss dann im Anschluss ein Nachweis der Toxine A und B für Klarheit sorgen. Denn nur Toxin A und B von C. difficile machen krank, kein Gen oder sonstiges Targetmolekül des Erregers sind hier beweisend, sondern bestenfalls orientierende Hilfsmittel. Denn es gibt einen zu weit verbreiteten asymptomatischen Trägerstatus in der Bevölkerung, von denen immer wieder welche an Durchfall erkranken, ohne dass C. difficile dabei irgendeine Rolle spielt.

Inwieweit nun die hochsensitiven zunächst nur C. difficile (toxigene oder atoxigene Stämme) aufspürenden Methoden – allein oder in Untersuchungsalgorithmen eingebaut – sich im klinischen Alltag bewähren oder entscheidende Vorteile bringen, werden künftige Studien noch zeigen müssen.

| www.r-biopharm.com |

Kontakt:
R-Biopharm AG, Darmstadt
Tel.: 061 51/81 02 – 26
h.leidinger@r-biopharm.de