

Michael Andreas Benz  
Dr. med.

## **Charakterisierung der *tcdC*-Subtypen klinischer Isolate von *Clostridium difficile* am Universitätsklinikum Heidelberg**

Promotionsfach: Infektiologie  
Doktorvater: Prof. Dr. med. Klaus Heeg

*Clostridium difficile* ist Erreger der pseudomembranösen Kolitis sowie der Mehrzahl Antibiotika-assoziierten Diarrhoen, Pathogen wirken dabei hauptsächlich die Toxine A und B, deren Produktion durch den Negativregulator TcdC beeinflusst wird. Seit dem Jahr 2000 werden Ausbrüche schwer verlaufender *Clostridium-difficile*-Infektionen und das Auftreten mutmaßlich hochpathogener Stämme wie Ribotyp 027/NAP1 beobachtet. Diese Stämme zeigen unter anderem *tcdC*-Subtypen mit nonsense-Mutationen, welche möglicherweise zu einer gesteigerten Toxinproduktion und erhöhten Pathogenität führen.

Die vorliegende Arbeit untersuchte die *tcdC*-Subtypen der am Department für Infektiologie des Universitätsklinikums Heidelberg isolierten *Clostridium-difficile*-Stämme auf das Vorkommen entsprechender Mutationen. Hierfür wurden aus klinischen Proben mit positivem Testresultat für *Clostridium-difficile*-Toxin oder Glutamatdehydrogenase (Antigen) Stämme isoliert und deren *tcdC*-Gen sequenziert.

In 13 Monaten konnten 226 Stämme von 164 Patienten isoliert werden. 159 *tcdC*-positive Isolate verschiedener Patienten wurden sequenziert und 12 unterschiedliche *tcdC*-Subtypen gefunden. 108 Isolate (67,9 %) zeigten Subtyp *tcdC-sc3*. 14 Isolate (8,8 %) zeigten einen von vier verschiedenen Subtypen mit nonsense-Mutation. Eines dieser Isolate mit Subtyp *tcdC-sc1* (117delA) bestätigte sich als Ribotyp 027. Ein weiteres Isolat zeigte eine zuvor noch nicht beschriebene Deletion an Position 387. Unter den Isolaten ohne nonsense-Mutation fand sich zudem ein Isolat mit einer zuvor noch nicht beschriebenen 18-Basenpaar-Insertion.

In absoluten Zahlen verzeichnete die Fachrichtung Hämatologie und Rheumatologie die meisten Patienten mit positivem *Clostridium-difficile*-Toxinnachweis. Die Rate der positiven Patienten lag hier mit 15,3 % jedoch nahe am Durchschnitt (15,4 %). Die zweithöchste Zahl positiv getesteter Patienten wurde für die Fachrichtung Rehabilitationsmedizin beobachtet. Die Rate positiv getesteter Patienten lag hier mit 41,3 % deutlich über dem Durchschnitt, zudem konnte bei 90,9 % der Stämme derselbe *tcdC*-Subtyp (*tcdC-sc3*) nachgewiesen werden.

Die Untersuchung von 274 Stuhlproben auf *Clostridium-difficile*-Glutamatdehydrogenase ergab 74 Antigen-positive Proben (27 %), 52 hiervon mit negativem Toxintest. In 64,4 % der mittels Kultur und PCR nachuntersuchten Antigen-positiven, Toxin-negativen Proben konnte ein *tcdC*-positiver, mutmaßlich pathogener Stamm nachgewiesen werden.

*tcdC*-Subtypen mit nonsense-Mutationen waren in der vorliegenden Arbeit häufig zu beobachten. Neben dem ersten Nachweis eines Ribotyps 027/NAP1 in Heidelberg fanden sich zwei zuvor noch nicht beschriebene *tcdC*-Subtypen. Hinweise auf Ausbrüche mit potentiell hochpathogenen Stämmen ergaben sich nicht. Die hohe Fallzahl, überdurchschnittliche Rate positiv getesteter Patienten sowie der überdurchschnittlich große Anteil an Isolaten mit

Subtyp *tcdC-sc3* deuten allerdings auf eine Häufung von *C.-difficile*-Infektionen im Fachbereich Rehabilitationsmedizin.

Angesichts steigender Fallzahlen sowie Ausbrüchen mit hochpathogenen Stämmen sind *Clostridium-difficile*-Infektionen eine der großen Herausforderungen für den klinisch tätigen Arzt, Mikrobiologen und Hygieniker. Die vorliegende Arbeit beschreibt das Vorkommen potentiell hochpathogener Stämme am Universitätsklinikum Heidelberg und zeigt mögliche Schwächen in der aktuellen *Clostridium-difficile*-Diagnostik auf. Sie veranschaulicht die lokale Epidemiologie und weist auf mögliche Infektions-Häufungen hin. Nicht zuletzt wird sie Grundlage und Ausgangspunkt für weiterführende Untersuchungen der Toxinproduktion und Regulation in Abhängigkeit unterschiedlicher *tcdC*-Subtypen sein.