

Clostridium difficile - Aktueller Stand

Teil I: Epidemiologie, Pathogenese, Diagnostik, Therapie, Immunologie und Prophylaxe

Grit Ackermann

Institut für Medizinische Mikrobiologie und Infektionsepidemiologie, Universität Leipzig

Abstract

Clostridium difficile ist der am häufigsten identifizierte Erreger der Antibiotika-assoziierten Diarrhoe. Infektionen mit *C. difficile* verursachen verlängerten Krankenhausaufenthalt und damit assoziiert erhöhte Kosten. Verbesserte Diagnostik der Infektion steht die Problematik rekurrierender Infektionen und Therapieversagen gegenüber. Die klonale Ausbreitung des Erregers in Krankenhäusern und Pflegeeinrichtungen verursacht schwer regulierbare Ausbruchssituationen.

In zwei Teilen soll eine Übersicht über den aktuellen Stand des Wissens zu *C. difficile* gegeben werden. In diesem Heft geht es vor allem um Diagnostik und Therapie. Teil 2 gibt einen Überblick über Virulenzfaktoren, Antibiotika-Resistenz sowie Typisierungsmethoden von *C. difficile*.

Einleitung

Der Erreger wurde 1935 als Kommensale im Darm gesunder Kinder entdeckt. Wegen des langsamen Wachstums in der Kultur und schwieriger Isolierung wurde ihm der Name *Clostridium difficile* gegeben.³² Ende der 70er Jahre wurde die Rolle von *C. difficile* als Erreger der Pseudomembranösen Kolitis erkannt.^{7,44} Die Bedeutung dieses Keimes in klinischer und gesundheitsökonomischer Hinsicht hat seit der Erstbeschreibung erheblich zugenommen und induziert bis heute eine Fülle von Studien und Forschungsprojekten.

Clostridium difficile hat sich als bedeutendster Erreger nosokomialer Diarrhoen etabliert, welche an fünfter Stelle der häufigsten Hospitalinfektionen stehen.⁶¹ Erhöhte Kosten durch verlängerten Krankenhausaufenthalt und zusätzliche diagnostische sowie therapeutische Maßnahmen verursachen zunehmendes Interesse der Kliniker, Mikrobiologen, Hygieniker und der Forschung für diesen Infektionserreger (Abb. 1). Ein typischer klinischer Fall resultiert in einer Verlängerung des Krankenhausaufenthaltes um 1 bis 2 Wochen, was ca. 10 000\$ zusätzliche Kosten verursacht.⁶⁹

Zwei bis fünf Prozent gesunder Erwachsener sind im Gastrointestinaltrakt mit *C. difficile* kolonisiert. Die erhöhte Prävalenz von *C. difficile* in Krankenhäusern ist eine Ursache der relativ schnellen Akquisition des Erregers nach stationärer Aufnahme

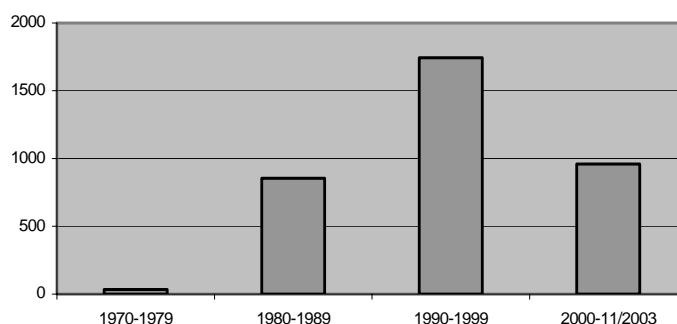


Abb. 1: Anzahl der Publikationen mit dem Stichwort *C. difficile* in Titel oder Abstract (Web of science Suche)

von Patienten. 10-25 % der Patienten im Krankenhaus sind mit *C. difficile* kolonisiert, in Ausbruchssituationen kann dieser Anteil höher sein. Neben Antibiotika-Therapie, verlängertem Krankenhausaufenthalt und Alter >60 Jahre sind weitere Risikofaktoren für die Akquisition einer *C. difficile*-assoziierten Diarrhoe (CDAD) bekannt: a) spezielle Erkrankungen wie Dysautonomien des Gastrointestinaltraktes, Diabetes mellitus, Leber- oder Nierenerkrankungen; b) spezielle Prozeduren wie die Anlage von Magensonden, chirurgische Eingriffe im oberen Gastrointestinaltrakt, aber auch die Anwendung von elektronischen Thermometern oder Bettstühlen; c) bestimmte Medikamente wie Laxantien, Histamin-Inhibitoren; d) der Aufenthalt in bestimmten Abteilungen eines Krankenhauses oder in Rehabilitationseinrichtungen.^{21, 61} Eine systematische Übersicht zur Assoziation von Antibiotika-Gabe und CDAD zeigte jedoch, dass die überwiegende Mehrheit der publizierten Studien durch inkorrekte Kontrollgruppen, einseitige Darstellung und kleine Untersuchungszahlen limitiert waren.⁶⁵

Nahezu alle Antibiotika wurden mit der Induktion einer CDAD in Verbindung gebracht. Zu den am häufigsten identifizierten Substanzen gehören β -Laktam-Antibiotika, vor allem Cephalosporine, sowie Clindamycin. Die Symptomatik der Erkrankung kann sich während, oder einige Tage bis zu drei Wochen nach einer Antibiotika-Therapie entwickeln.⁶⁴ Die Inkubationszeit nach Aufnahme des Erregers ist wahrscheinlich kürzer als eine Woche, mit einem Median von zwei Tagen für das Auftreten erster Symptome.⁵² Normalerweise setzen die Symptome abrupt ein, mit explosiven, wässrigen und faulig riechenden Diarrhoen. Abdominale Schmerzen werden von erhöhter Leukozytenzahl begleitet, manchmal haben die Patienten auch Fieber. Blut wird in der Regel nicht im Stuhl nachgewiesen. Die Infektion beschränkt sich auf das Kolon und das Rektum. Mehr als 80% der Fälle betreffen hospitalisierte Patienten >65 Jahre.¹⁵

Epidemiologie

C. difficile kann bei bis zu 20% der hospitalisierten Patienten in Krankenhäusern der Maximalversorgung und bei 25-80% gesunder Neugeborener und Säuglinge gefunden werden. Ca. 3% der gesunden Normalbevölkerung sind (symptomlose) Träger von *C. difficile*. Reservoir für den Erreger ist vor allem die Umwelt, wo der Mikroorganismus von diversen Standorten kultiviert werden konnte. *C. difficile* wurde sowohl aus dem Erdboden, Sand und Heu, als auch von verschiedenen Tieren isoliert. Am häufigsten gelang der Nachweis aus Flüssen und Schwimmbecken.¹³ Nur ein Bruchteil der kolonisierten Patienten entwickelt jedoch eine nachweisbare Infektion.^{36,61}

Bedeutung als nosokomialer Infektionserreger

Neben dem endogenen Weg der Akquisition des Erregers spielt vor allem die Umgebung des Patienten im Krankenhaus eine bedeutende Rolle. Die Fähigkeit von *C. difficile*, extrem umweltresistente Sporen zu bilden, erleichtert das Überleben des Erregers in der Krankenhausumgebung und ist der Grund für die Resistenz von *C. difficile* gegen übliche Desinfektionsmaßnahmen. Die Prävalenz des Erregers in Krankenhäusern und Pflegeheimen ist hoch und nur durch intensivierete Hygienemaßnahmen regulierbar. Die Hände von Krankenhauspersonal, aber auch Geräte, Mobiliar und Einrichtungsgegenstände, und Stethoskope sind Übertragungsmedien für Sporen von *C. difficile*. Das Bettgestell und der Fußboden in Patientenzimmern waren die Lokalisationen, wo *C. difficile* am häufigsten bzw. in der höchsten Keimzahl isoliert wurde.⁶⁸ Ein etablierter *C. difficile* Ausbruch ist schwer einzudämmen und bedarf intensiver krankenhaushygienischer Arbeit. Die Übertragung der Sporen kann sowohl als Kontaktübertragung, aber auch als Aerosol, aerogen oder fäkal-oral erfolgen. Richtlinien zur Behandlung und Isolierung von infizierten und bekannten kolonisierten Patienten beinhalten a) die Kittel- und Handschuhpflege, b) die räumliche Isolierung von Patienten (v. a. jene mit dünnflüssigen Stühlen), c) die Vermeidung rektaler Temperaturmessung (bzw. die Verwendung „patienteneigener“ Thermometer, d) die Reinigung der unmittelbaren Patientenumgebung mit sporoziden Mitteln und e) die Empfehlung für das Personal, die Hände häufiger mit Seife zu waschen.²⁵

Restriktiver Antibiotika-Einsatz, unter besonderer Berücksichtigung der mit der Entstehung einer *C. difficile*-Infektion assoziierten Substanzen, kann die Rate nosokomialer CDADs signifikant senken.⁵⁴ Durch die Verwendung geeigneter Desinfektionsmittel, z. B. Hypochloridlösungen, konnte die Inzidenz von CDAD bei Knochenmarktransplantierten Patienten signifikant reduziert werden.⁴⁹

Eigene Erhebungen am Patientengut des Universitätsklinikums Leipzigs zeigten im Zeitraum 1997 bis Juni 2003 eine stete Zunahme der Einsendungen von Stuhlproben mit der Fragestellung *C. diffi-*

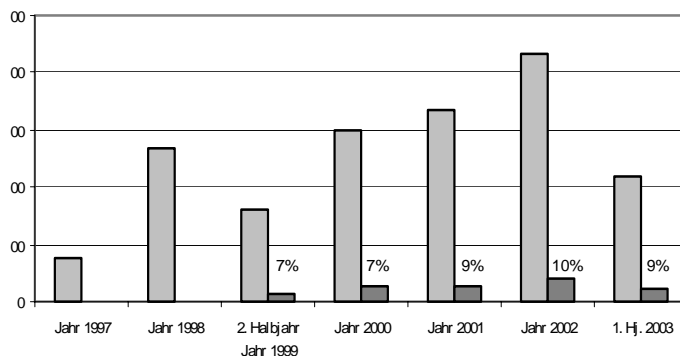


Abb. 2: Stuhlagnostik für *C. difficile* am Institut für Medizinische Mikrobiologie der Universität Leipzig; hellgrau: Anzahl der Einsendungen, dunkelgrau: Anzahl positiver Befunde; für die Jahre 1997, 1998 und das erste Halbjahr 1999 lagen keine auswertbaren Untersuchungsergebnisse vor.

cile-Nachweis (Abb. 2). Die Zahl positiver Befunde nahm zu – in Relation zur Zahl der Stuhluntersuchungen handelt es sich jedoch nicht um eine signifikante Zunahme der Inzidenz von *C. difficile*-Infektionen.

Pathogenese

Der protektive Effekt der physiologischen Mikroflora des Gastrointestinaltraktes, auch als „Kolonisationsresistenz“ beschrieben, wird durch Chemotherapeutika gestört, und dies bahnt den Weg für die Infektion mit *C. difficile* und anschließender Toxinproduktion durch den Erreger (Abb. 3).⁴⁴ Die Kolonisationsresistenz ist sowohl bei älteren Menschen als auch bei Neugeborenen – hier durch die sich erst aufbauende Mikroflora – niedriger. Gesunde Neugeborene tragen in bis zu 65 % den Erreger im Magen-Darm-Trakt. Ein fehlender Rezeptor im Darm wird als eine mögliche Ursache für die ausbleibende Symptomatik bei Kindern <2 Jahre angenommen.¹⁰

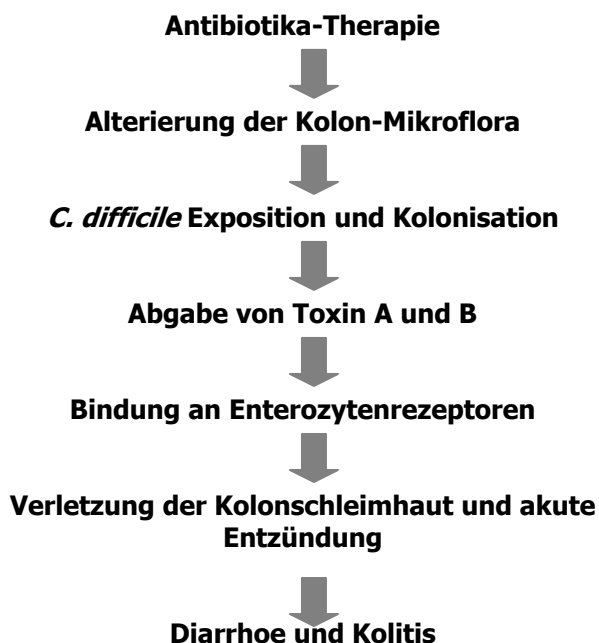


Abb. 3: Pathogenese der CDAD.

Bekannte Virulenzfaktoren von *C. difficile* sind das Enterotoxin A, das Zytotoxin B und das vor einigen Jahren entdeckte ebenfalls zytotoxisch wirkende sogenannte Binary Toxin.^{5,47,55} Die Toxine A und B glykosylieren kleine GTP-bindende Proteine, welche eine bedeutende Rolle in der Kontrolle des Aktin-Zytoskelets, der Zellproliferation und des Zelltodes spielen. Toxin A und B agieren vom Inneren der Zelle aus, wohin sie durch einen endozytoseartigen Vorgang gelangen. Für Toxin A wurde ein Rezeptor beschrieben.¹⁶

Toxin A verursacht eine Gewebeschädigung, was die Sekretion von Flüssigkeit in das intestinale Lumen zur Folge hat. In vitro zeigen beide Toxine zytotoxische Aktivität, wobei die von Toxin B ca. vielfach stärker ist im Vergleich zu Toxin A. Toxin A und B sind die derzeit größten bekannten bakteriellen Toxine (308 bzw. 270 kDa).^{17,35} Die beiden Toxine bestehen aus drei Domänen und agieren via Zellrezeptor vermittelter Endozytose. Toxin B profitiert von dem durch Toxin A initiierten Mukosa- und Epithelschaden im Intestinum, denn dadurch erhält Toxin B Zugang zu tieferen Zellschichten. Die systemische Gabe von Toxin A und B im Tierversuch führte zum Tod der Versuchstiere (50 ng letale Dosis). Der Mechanismus dieser Wirkung ist unklar.⁴⁸

C. difficile Stamm CD196 produziert eine Aktinspezifische ADP-Ribosyltransferase (Binary Toxin), welche in Struktur und Aktivität dem *Clostridium perfringens* τ -Toxin ähnlich ist.^{55,56,62} Die Gene *cdtA* und *cdtB* kodieren die Nukleinsäuresequenz. Das Binary Toxin wurde bisher in Stämmen mit signifikanten Veränderungen in den Toxingenen *tcdA* und *tcdB* und in Stämmen ohne Toxin A- und B-Gene nachgewiesen. *C. difficile*-Stämme mit intaktem *tcdA* und *tcdB* (vergleichbar dem Referenzstamm VPI 10463) hatten keine Binary Toxin-Gene.⁶² Die Rolle des Binary Toxins in der Pathogenese der *C. difficile* Infektion ist bisher unklar.

Es ist bekannt, dass die Virulenz verschiedener Stämme sehr unterschiedlich sein kann. Quantität und Qualität der Toxinproduktion können variieren. Es wurden Stämme beschrieben, die nur Toxin A oder Toxin B produzierten, oder deletierte Formen der Toxingene besaßen und trotzdem schwere klinische Verläufe verursachten.^{11,14,33,45,66} Stämme, die kein Toxin produzieren, weil sie die Gene zur Toxinbildung nicht besitzen, haben keine klinische Bedeutung. Die Bedeutung von Toxinvarianten für Diagnostik und Therapie kann bisher nicht beurteilt werden, dafür fehlen epidemiologische Daten sowie Untersuchungen zum Einfluss verschiedener Toxintypen bezüglich pathogenetischer und diagnostischer Aspekte.

Die unterschiedlichen Verläufe der *C. difficile* Infektionen werden sowohl durch erregerspezifische als auch durch wirtsspezifische Besonderheiten bestimmt.

Diagnose

Kultureller Nachweis

C. difficile kann unter obligat anaeroben Bedingungen aus Stuhlproben angezüchtet werden. Der Erreger wächst gut auf dem von George et al. entwickelten Selektivnährboden Cycloserin-Cefoxitin-Fruktose-Agar (CCFA, 500 mg/l Cycloserin, 16 mg/l Cefoxitin).²⁴ Die Kulturen werden für 48 h inkubiert, bei einer Präreduktion des Mediums in

anaerober Atmosphäre können die Kulturen meist schon nach 24 h abgelesen werden. Der Zusatz von Taurocholat zum Medium erhöht die Sensitivität der Anzucht aus im Material vorhandenen Sporen, ebenso die Hitze- oder Alkohol-Behandlung der Stuhlproben. Typische *C. difficile* Kolonien erscheinen auf der CCFA-Platte (ohne Blutzusatz) als flache gelbe – auch in der Umgebung der Kolonien ist der Nährboden gelb verfärbt – Kolonien mit ausgefranstem Rand und typischen kresolatartigem (wie Pferdekot) Geruch. Andere Mikroorganismen, speziell *Clostridium innocuum*, können auf CCFA wachsen und müssen mittels weiterer Tests abgegrenzt werden.¹

Die Identifizierung mittels biochemischer Leistungsprüfung beruht z. B. im *RapID ANA II System* (REMEL Inc., Norcross, GA, USA) und im rapid ID 32 A (bioMérieux, Lyon, Frankreich) im wesentlichen auf einer einzelnen positiven Reaktion, dem Nachweis der Prolin-Arylamidase. Erfahrene Untersucher können bei typischer Koloniemorphologie auf CCFA mittels des PRO KIT-Testes von REMEL, der die L-Prolin-Aminopeptidase nachweist, schnell (5 min) und einfach die Diagnose *C. difficile* bestätigen.¹⁸ (Kurz nach Fertigstellung des Manuskripts wurde vom Importeur des Testkits mitgeteilt, dass dieser wegen fehlender CE-Zertifizierung nicht mehr eingeführt wird.)

Die Fähigkeit zur Toxinbildung muss in angezüchteten Stämmen mit zusätzlichen Untersuchungen evaluiert werden.

Zytotoxizitätstest in der Zellkultur

Als Goldstandard zum Nachweis Toxin-bildender *C. difficile* Stämme gilt der Nachweis spezifischer Zytotoxizität in der Zellkultur. Hierfür wird die aufgearbeitete zellfreie Stuhlsuspension auf Monolayer permanenter Zelllinien gegeben, wo nach 24 bis 48 h ein charakteristischer zytopathischer Effekt (CPE) abgelesen werden kann. Zu hoher zeitlicher und finanzieller Aufwand haben die weitgehende Ablösung dieses Untersuchungsverfahrens verursacht.

Antigen- und Toxinnachweis mittels ELISA o. Agglutinationstechniken (s. Tab. 1)

Heute stehen moderne Agglutinationsteste, Toxin-ELISAs und Antigen-Nachweise zur Verfügung. Mit diesen kann die Diagnose innerhalb kurzer Zeit gestellt werden. Der erst vor kurzem in den USA zugelassene *C. DIFF CHEK™* (TechLab, Blacksburg, VA, USA) ist ein Antigen-ELISA zum Nachweis der Glutamat-Dehydrogenase (GDH) – auch als “common antigen“ bezeichnet, weil sowohl in Toxin-negativen, als auch in Toxin-positiven Stämmen nachweisbar – in *C. difficile*.⁷² Wie andere Antigen-Nachweise auch, unterscheidet dieser Test nicht zwischen Toxinbildnern und Toxin-negativen Stämmen und sollte deshalb nur in Kombination mit anderen Untersuchungsverfahren angewendet werden. Mit dem Triage® *C. difficile* Test (Biosite Diagnostics, Inc., San Diego, CA, USA) wird sowohl die Glutamat-Dehydrogenase als auch Toxin A bestimmt. Bei diesem sehr kostenintensiven Test muss ebenfalls ein Großteil der Proben (mit ToxinA-/ GDH+ Ergebnis) mit einem weiteren Verfahren untersucht werden, um wirklich Toxin-positive Patienten von *C. difficile* Trägern zu unterscheiden.⁴²

Verschiedene Nachweissysteme zum Nachweis von Toxin A bzw. von Toxin A und B werden angeboten. Das Wissen um einen kleinen Anteil Toxin A-negativer/Toxin B-

Tab. 1: Sensitivität und Spezifität verschiedener Nachweissystem (im Vergleich zum Goldstandard Zytotoxizitätstest in der Zellkultur)

| Method | Test | n | Spezifität | Sensitivität | PPV | NPV | Ref. |
|-----------|----------------------------|------|-------------|--------------|-------------|-------------|------|
| Toxin A | Clearview A ^a | 407 | 96,9% | 91% | k.A. | k.A. | 9 |
| | Prima A ^b | 1003 | 98,3% | 82,2% | 84,7% | 98,0% | 67 |
| Toxin A+B | TOX A/B ^c | 400 | 99% | 89% | k.A. | k.A. | 3 |
| | TOX A/B ^c | 1152 | 100% | 92,2% | k.A. | k.A. | 46 |
| | Cytoclone A/B ^d | 1003 | 99,1% | 73,3% | 90,2% | 97,1% | 67 |
| Antigen | C.DIFF.CHEK ^e | 179 | 91,6% | 92% | 54,8% | 99% | 26 |
| Antigen | Triage ^e | 400 | 66% | 93% | 59% | 99% | 3 |
| + | AG/Toxin A ^e | 102 | 82,7%/100% | 100%/33% | 53,6%/100% | 100%/88,2% | 42 |
| Toxin A | AG/Toxin A ^e | 1003 | 89,7%/99,6% | 89,1%/59,4% | 49,2%/93,8% | 98,7%/95,6% | 67 |
| A+B-Gen | PCR | 118 | 100% | 91,5% | k.A. | k.A. | 29 |
| | Real-time PCR | 56 | 100% | 97% | k.A. | k.A. | 8 |

^a Unipath, Bedford, UK; ^b Trinity Biotech, Bray, Ireland; ^c Techlab, Blacksburg, VA, USA; ^d Meridian Diagnostics, Cincinnati, OH, USA; ^e Biosite Diagnostics, San Diego, CA, USA

positiver *C. difficile* Stämme hat zu der Empfehlung geführt, heute nur noch ELISAs zu verwenden, die zum Nachweis von Toxin A und B geeignet sind.

Molekularbiologische Diagnostik

Auf PCR-Methodik basierende Nachweise von *C. difficile* in Stuhlproben existieren seit Anfang der 90er Jahre.^{29,30,31,63} Ein Real-Time-PCR Assay weist Abschnitte der Gene für Toxin A und B nach. Die untere Nachweisgrenze war in dieser Studie 5×10^4 KbE/g Stuhl, die Bearbeitungszeit der Stuhlprobe bis zum Ergebnis wurde mit 1 h angegeben.⁸ Die sehr hohe Sensitivität dieser Verfahren macht auch die Identifizierung von *C. difficile* bei Patienten, die nur Träger des Erregers sind, möglich, was u. U. zu Interpretationsproblemen führen kann.

Die aufgezählten Methoden unterscheiden sich hinsichtlich Spezifität und Sensitivität, Kosten und Dauer der Durchführung (Tab. 2).³⁶

Probleme der Diagnostik

Die überwiegende Mehrheit der medizinischen Untersuchungslabors bedient sich ausschließlich des *C. difficile* -Toxinnachweises im ELISA. Der Erreger wird somit nicht angezüchtet und steht nicht für die Empfindlichkeitsprüfung und eventuelle Typisierung in Ausbruchssituationen zur Verfügung. Hinzu kommt, dass bedingt durch die re-

relative Instabilität des Toxins in Stuhlproben die Sensitivität der ELISAs stark vom Alter und Aufbewahrungsmodus der Probe abhängt. Die Lagerung von Stuhlproben bei 4°C gewährleistet die Stabilität der Toxine über mehrere Wochen, mehrfaches Einfrieren und Auftauen des Materials führt zu signifikanter Abnahme nachweisbaren Toxins.²⁰ Eine spanische Arbeitsgruppe nutzte einen „second look“ zur Identifizierung von zusätzlichen 15 % Toxinproduzierenden Stämmen, indem die angezüchteten Isolate dem Zytotoxizitätstest zugeführt wurden.¹²

Eigene Untersuchungen haben gezeigt, dass die Sensitivität des Nachweises von *C. difficile* nur mit paralleler Durchführung von Kultur und Toxin-ELISA akzeptabel hoch ist. Im Zeitraum von Juli 1999 bis Juni 2003 wurden 7300 Stuhlproben aus dem Universitätsklinikum Leipzig zur Untersuchung auf *C. difficile* in das Labor des Institutes für Medizinische Mikrobiologie eingesandt. 665 mal konnte die Diagnose *C. difficile* Infektion durch den kulturellen Nachweis und/oder den Toxinnachweis im ELISA gestellt werden. Nur in etwas mehr als einem Drittel der Fälle gelangen parallel sowohl die Anzucht als auch der Toxin-Nachweis im ELISA. Zu je einem weiteren Drittel waren entweder nur die Kultur allein positiv oder der Toxin-Nachweis. In eigenen Untersuchungen wurden 7 % aller angezüchteten Stämme mittels Toxin-Gen-PCR als Toxin-negativ bestimmt. Der Anteil Toxin A-negativer/Toxin B-positiver Stämme liegt in unseren klinischen Isolaten unter 1 %.

Tab. 2: In der Diagnostik der CDAD eingesetzte Verfahren.

| Test | Prinzip | Sensitivität | Spezifität | Dauer | Kosten | NG |
|---------------------------------|------------------------------------|--------------|----------------------------|----------|---------|-----------------------------|
| Zytotoxizität in der Zellkultur | Toxinnachweis | +++ | +++ | 24-48 h | hoch | 10 pg |
| ELISA | Toxin +/- Antigennachweis | ++ | +++ Toxin A +/- Toxin B | 2-6 h | hoch | 100-1000 pg |
| Latexagglutination | Antigennachweis | ++ | + | min | niedrig | k.A. |
| Kultur | Erregeranzucht, kein Toxinnachweis | ++ | + | 2-5 Tage | moderat | 2×10^3 KbE |
| PCR | Nachweis spez. Genabschnitte | +++ | +++ | 2-4 h | moderat | 5×10^4 KbE/g Stuhl |

NG: Nachweisgrenze

Therapie

In den meisten Fällen ist die Beendigung einer durchgeführten Antibiotika-Gabe ausreichend für die Behandlung einer CDAD. Bei therapiebedürftigen *C. difficile* Infektionen sind Metronidazol (500 mg/8 h, p. o. oder i. v.) oder Vancomycin (125 mg/6 h, p. o.) verabreicht für 10 Tage die Medikamente der Wahl. Probleme bereiten neben der Selektion bestimmter multi-resistenter Bakterienpopulationen im Gastrointestinaltrakt vor allem die in bis zu 20% stattfindenden rekurrierenden Infektionen.^{1,22,27,57,71} Der Nachweis von *C. difficile* Toxin wurde als Risikofaktor für die Kolonisierung mit Vancomycin-resistenten Enterokokken (VRE) ermittelt.⁵⁸

Eine retrospektive Studie berichtete Rezidiv-Raten von 42 %, unabhängig von Dosis und Art des verabreichten Antibiotikums (Metronidazol oder Vancomycin).⁵⁰ Rezidivierende Infektionen sind als Wiederauftreten der Symptome innerhalb von 3-21 Tagen nach Beendigung einer Metronidazol- oder Vancomycin-Therapie definiert.⁶ 3-5 % der Patienten erleiden mehr als sechs Reinfektionen. Diese Patienten werden für vier bis sechs Wochen antibiotisch behandelt. Modifizierungen dieser Therapieversuche beinhalten eine Vancomycin Pulse-Therapie (125 mg/2 Tage) zur Minimierung des Effekts auf die gastrointestinale Flora und der Erhaltung von *C. difficile* im Sporenstadium. Andere Versuche sind der Einsatz von Ionen-Austauschern, wie z. B. Cholestyramin oder die Verabreichung von Pro-Biotika wie *Saccharomyces boulardii* oder *Lactobacillus* Stamm GG.^{28,51}

Die Konzentration von Metronidazol und Vancomycin im Darmlumen, bzw. der Anteil aktiver Substanz in den Fezes sind kritische Punkte des Managements therapiebedürftiger *C. difficile*-Infektionen. Die Vancomycin-Konzentration beträgt bei empfohlener Dosierung für die Therapie einer CDAD 100-800 µg/g Stuhl, die von Metronidazol wird mit 0,4 bis 24,4 µg/g Fezes angegeben.⁷⁰ Es ist unklar, ob bei allen Patienten diese weit über der MHK von *C. difficile* für Vancomycin bzw. Metronidazol liegenden Spiegel im Darmlumen erreicht und gehalten werden können. Erhöhte Stuhlfrequenz und verändertes Milieu im Darmlumen können die Konzentration und Aktivität der Substanzen beeinträchtigen.

Tabelle 3 enthält eine Übersicht zum Management von Patienten mit CDAD.

Therapiealternativen, die noch evaluiert und diskutiert werden, und für die es bisher keine Empfehlung bzw. Zulassung in der Behandlung der CDAD gibt, schließen die Gabe von Vancomycin direkt in das Kolon sowie die Verwendung von Substanzen wie Bacitracin, Fusidinsäure, Teicoplanin und Linezolid p.o. ein. Bei schwer verlaufenden *C. difficile* Infektionen, wie dem toxischen Megakolon, Ileus und toxischer Enterokolitis waren verabreichte Antibiotika unwirksam, weil die Konzentrationen der Substanzen im Kolon unzureichend waren. Die rektale Gabe von Vancomycin in einer kleinen Patientengruppe war effektiv.⁴

Andere Therapieansätze beinhalten die Rekonstitution der Darmflora bzw. die Unterstützung des Wiederaufbaus der Kolonisationsresistenz. Die Kolonisierung von Hamstern mit Toxin-negativen Stämmen während kontinuierlicher Ceftriaxon-Infusion verhinderte eine CDAD. Die Tiere hatten drei Tage nach Kolonisierung mit Toxin-negativen *C. difficile* Isolaten 10⁶ Sporen von toxinbildenden Stämmen

Tab. 3: Richtlinien für das Management der CDAD^{19,34}

- Isolierung des Patienten
- Schulung des Personals; Tragen von Handschuhen und Einmal-Schürzen bei der Patientenversorgung; Handhygiene
- Wenn möglich Beendigung der Antibiotika-Therapie; Vermeiden antiperistaltischer Medikamente
- Diagnostik für *C. difficile*, bei initial negativem Befund erneute Einsendung von ein oder zwei Stuhlproben
- Antibiotika-Therapie bei klinischer Indikation (moderate oder schwere Diarrhoe, systemische Symptome, signifikante Leukozytose etc.), Beginn mit empirischer Therapie in besonders schweren Fällen:

 Metronidazol: 500 mg/3x täglich p.o. für 10 bis 14 d oder
 Vancomycin: 125 mg/4x täglich p.o. für 10-14 d (besonders bei Metronidazolunverträglichkeit, Versagen der Metronidazoltherapie, schwangeren Patienten)
- Erste Rezidiv: Metronidazol oder Vancomycin für weitere 10-14 d
- Studien zu Patienten mit multiplen Rezidiven existieren nicht, eine Behandlung mit Metronidazol oder Vancomycin über 4.-6 Wochen wird empfohlen (s. auch Text)

per os verabreicht bekommen. Alle Hamster wurden erfolgreich mit den Toxin-negativen Stämmen kolonisiert und eine CDAD wurde verhindert. Die Tiere der Kontrollgruppe – ohne Kolonisierung mit Toxin-negativen Stämmen – verstarben.⁵⁹

Immunologie und Abwehr

Serumantikörper gegen *C. difficile* Toxine wurden bei ca. 60 % untersuchter Kinder und Erwachsener nachgewiesen.³⁸ Symptomfreie Träger von *C. difficile* hatten ein geringeres Risiko an einer CDAD zu erkranken als primär Kultur-negative Patienten. Diese Beobachtung wurde sowohl für die Kolonisierung mit Toxin-bildenden als auch mit Toxin-negativen Stämmen gemacht.⁶⁰ *C. difficile* induziert eine humorale Immunantwort mit der Produktion von IgG, IgM und IgA gegen Toxin A, Toxin B und andere *C. difficile* Antigene. Asymptomatische *C. difficile* Träger mit hohen Antikörpertitern erkrankten weniger schwer an einer CDAD als solche mit niedrigen Antikörpertitern.⁴¹ Während der initialen Infektion mit *C. difficile* gebildete Antikörper gegen Toxin A schützten den Patienten vor rekurrierenden Infektionen. Patienten mit Rezidiven verfügten meist nur über niedrige Antikörpertiter (Serum IgG und fäkales IgA).⁴⁰

Bovines Anti-*C. difficile*-IgG neutralisierte den zytotoxischen Effekt der *C. difficile* Toxine in vitro. Das bovine Immunglobulin-Konzentrat wurde aus der Milch tragender Kühe gewonnen, welche während der Gestation mit *C. difficile*-Toxoid immunisiert worden waren.³⁷

Prophylaxe

Unbefriedigende Ergebnisse der Antibiotika-Therapie sowie die Selektion multiresistenter Keime und die Beeinträchtigung des physiologischen Zustandes der Gastrointestinalflora initiieren und motivieren die Suche nach einem geeigneten Impfstoff zur Prophylaxe von Infektionen durch *C. difficile*. Verschiedene Gruppen arbeiten an der Herstellung eines Impfstoffes für *C. difficile*. Genth et al. blockierten die enzymatische Aktivität des Toxin B von *C. difficile* mittels Alkalisierung unter Beibehaltung der nativen Struktur des Toxins. Der C-terminale Abschnitt des Proteins, welcher auch für die Rezeptorbindung verantwortlich sein soll, wurde als der Bereich mit hoher Antigenität identifiziert. Die in Kaninchen gebildeten Antikörper gegen diese inaktivierten Toxine blockierten die katalytische Aktivität von Toxin B in vitro.²³ In einer anderen Studie wurde ein rekombinantes nicht-toxisches Peptid von *C. difficile* Toxin A als Antigen kovalent an ein Polysaccharid-Protein-Konjugat aus den Oberflächenpolysacchariden von *Pneumococcus* Typ 14, *Shigella flexneri* Typ 2a und *Escherichia coli* K1 gebunden. Diese Konjugate stimulierten die Synthese hochtitriger Serum-Antikörper vom Typ IgG gegen die Polysaccharide und gegen Toxin A. Die Antikörper wirkten neutralisierend und schützten immunisierte Mäuse gegen die Wirkung von *C. difficile* Toxin A.⁵³ Erste Untersuchungen bei gesunden Erwachsenen wurden mit Formalin-inaktivierten Toxoid A- und B-Vakzinen durchgeführt. Bei >90 % der Probanden wurden hohe Anti-Toxin A und Anti-Toxin B IgG-Spiegel gemessen. Erhöhtes fäkales IgA wurde bei der Hälfte der Probanden nachgewiesen.^{2,39}

Literatur

- 1 Ackermann G, Tang YJ, Jang SS, Silva Jr J, Rodloff AC, Cohen SH. Isolation of *Clostridium innocuum* from Cases of Recurrent Diarrhea in Patients with prior *Clostridium difficile* associated diarrhea. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2001; 40: 103-6.
- 2 Aboudola S, Kotloff KL, Kyne L, Warny M, Kelly EC, Sougioultzis S et al. *Clostridium difficile* vaccine and serum immunoglobulin G antibody response to toxin A. *Infect Immun* 2003; 71: 1608-1610.
- 3 Alfa MJ, Swan B, VanDekerkhove B, Pang P, Harding GKM. The diagnosis of *Clostridium difficile*-associated diarrhea: comparison of Triage® *C. difficile* panel, EIA for Tox A/B and cytotoxin assays. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002; 43: 257-63.
- 4 Apisarnthanarak A, Razavi B, Mundy LM. Adjunctive intracolonic vancomycin for severe *Clostridium difficile* colitis: case series and review of the literature. *Clin Infect Dis* 2002; 35: 690-6.
- 5 Banno Y, Kobayashi T, Kono H, Watanabe K, Veno K, Nozawa Y. Biochemical characterisation and biological action of two toxins (D-1 and D-2) from *Clostridium difficile*. *Rev Infect Dis* 1984; 6: S11-S20.
- 6 Bartlett JG. Antibiotic-associated diarrhea. *N Engl J Med* 2002; 346: 334-9.
- 7 Bartlett JG, Chang TW, Gurwith M, Gorbach, SL, Onderdonk AB. Antibiotic-associated pseudomembranous colitis due to toxin-producing clostridia. *N Engl J Med* 1978; 298: 531-4.
- 8 Bélanger SD, Boissinot M, Claroux N, Picard FJ, Bergeron MG. Rapid detection of *Clostridium difficile* in feces by real-time PCR. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 730-4.
- 9 Bentley AH, Patel NB, Sidorczuk M, Loy P, Fulcher J, Dexter P, Richards J, Borriello SP, Zak KW, Thorn EM. Multicentre evaluation of a commercial test for the rapid diagnosis of *Clostridium difficile* –mediated antibiotic-associated diarrhoea. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1998; 17: 788-90.
- 10 Borriello SP, Wilcox MH. *Clostridium difficile* infections of the gut: the unanswered questions. *J Antimicrob Chemother* 1998; 41: Suppl. C, 67-9.

- 11 Borriello SP, Wren BW, Hyde S, Seddon SV, Sibbons P, Krishna MM, Tabaqchali S, Manek S, Price AB. Molecular, immunological, and biological characterization of a toxin A-negative, toxin-B-positive strain of *Clostridium difficile*. *Infect Immun* 1992; 60: 4192-9.
- 12 Bouza E, Peláez T, Alonso R, Catalán P, Muñoz P, Rodríguez Créixems M. 'Second look' cytotoxicity: an evaluation of culture plus cytotoxin assay of *Clostridium difficile* isolates in the laboratory diagnosis of CDAD. *J Hosp Infect* 2001; 48: 233-7.
- 13 Brazier JS. The epidemiology and typing of *Clostridium difficile*. *J Antimicrob Chemother* 1998; 41: 47-57.
- 14 Cohen SH, Tang YJ, Hansen B., Silva Jr J. Isolation of a toxin B-deficient mutant strain of *Clostridium difficile* in a case of recurrent *C. difficile*-associated diarrhea. *Clin Infect Dis* 1997; 26: 410-2.
- 15 Communicable Disease Surveillance Centre. *Clostridium difficile* in England and Wales. *Commun Dis Rep CDR Weekly* 2000; 10: 135.
- 16 Eichel-Streiber C v, Boquet P, Sauerborn M, Thelestam M. Large clostridial cytotoxins – a family of glycosyltransferases modifying small GTP-binding proteins. *Trends Microbiol* 1996; 4: 375-82.
- 17 Eichel-Streiber C v, Laufenberg-Feldmann R, Sartingen S, Schilze J, Sauerborn M. Comparative sequence analysis of the *Clostridium difficile* toxins A and B. *Mol Gen Genet* 1992; 233: 260-8.
- 18 Fedorko DP, Williams AC. Use of Cycloserin-Cefoxitin-Fructose Agar and L-Proline-Aminopeptidase (Pro Discs) in the rapid identification of *Clostridium difficile*. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 1258-9.
- 19 Fekety R. Guidelines for the diagnosis and management of *Clostridium difficile*-associated diarrhea and colitis. *Am J Gastroenterol* 1997; 92: 739-50.
- 20 Freeman J; Wilcox MH. The effects of storage conditions on viability of *Clostridium difficile* vegetative cells and spores and toxin activity in human faeces. *J Clin Pathol* 2003; 56: 126-8.
- 21 Freeman J, Wilcox, MH. Antibiotics and *Clostridium difficile*. *Microb Infect* 1999; 1: 377-384.
- 22 Friedenber F, Fernandez A, Kaul V, Niami P, and Levine GM. Intravenous metronidazole for the treatment of *Clostridium difficile* colitis. *Dis Colon Rectum* 2001; 44: 1176-80.
- 23 Genth H, Selzer J, Busch C, Dumbach J, Hofmann F, Aktories K and Just I. New method to generate enzymatically deficient *Clostridium difficile* Toxin B as an antigen for immunization. *Infect Immun* 2000; 68: 1094-1101.
- 24 George WL, Sutter VL, Citron D, Finegold SM. Selective and differential medium for the isolation of *Clostridium difficile*. *J Clin Microbiol* 1979; 9: 214-9.
- 25 Gerding DN, Johnson S, Peterson LR, Mulligan ME, Silva Jr J. *Clostridium difficile*-associated diarrhea and colitis. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1995; 16: 459-77.
- 26 Gleaves C, Kohlhepp SJ, Campbell M, Kviz C, Wohlsein E, Lublink K, Mortensen S, Casciato R, Welle J. Evaluation of the Tech-Lab C.DIFF CHEKTM-30 and C.DIFF CHEKTM-60 for detection of *Clostridium difficile* in fecal specimens. In Program and abstracts of the 103rd ASM General Meeting, May 18-22, 2003, Washington, D.C. Abstract L-013.
- 27 Goldman WM, Avicoli AS, Lutwick S. *N Engl J Med* 1994; 330: 1775.
- 28 Gorbach S, Chang TW, Goldin B. Successful treatment of relapsing *Clostridium difficile* colitis with Lactobacillus GG. *Lancet* 1987; 2: 1519.
- 29 Guilbault C, Labbé, A-C, Poirier L, Busque L, Béliveau C, Laverdière M. Development and evaluation of a PCR method for detection of the *Clostridium difficile* toxin B gene in stool specimens. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 2288-2290.
- 30 Gumerlock PH, Tang YJ, Weiss JB, Silva Jr J. Specific detection of toxigenic strains of *Clostridium difficile* in stool specimens. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 507-511.
- 31 Gumerlock PH, Tang YJ, Meyers FJ, Silva Jr J. Use of polymerase chain reaction for the specific and direct detection of *Clostridium difficile* in human feces. *Rev Infect Dis* 1991; 13: 1053-60.
- 32 Hall IC, O'Toole E. Intestinal flora in newborn infants with description of a new pathogenic anaerobe. *Am J Dis Child* 1935; 49: 390-402.

- 33 Johnson S, Kent SA, O'Leary K, Merrigan MM, Sambol SP, Peterson LR, Gerding DN. Fatal pseudomembranous colitis associated with a variant *Clostridium difficile* strain not detected by toxin A immunoassay. *Ann Intern Med* 2001; 135: 434-8.
- 34 Johnson S, Gerding DN. *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Clin Infect Dis* 1998; 26: 1027-36.
- 35 Just I, Selzer J, Wilm M, Eichel-Streiber C v, Mann M, Aktories K. Glucosylation of Rho proteins by *Clostridium difficile* toxin B. *Nature* 1995; 375: 500-503.
- 36 Kelly CP, LaMont JT. *Clostridium difficile* infection. *Annu Rev Med* 1998; 49: 375-90.
- 37 Kelly CP, Pothoulakis C, Vavva F, Castagliuolo I, Bostwick EF, O'Keane JC, Keates S, LaMont JT. Anti-*Clostridium difficile* bovine immunoglobulin concentrate inhibits cytotoxicity and enterotoxicity of *C. difficile* Toxins. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40: 373-9.
- 38 Kelly CP, Pothoulakis C, LaMont JT. *Clostridium difficile* colitis. *N Engl J Med* 1994; 330: 257-262.
- 39 Kotloff KL, Wasserman SS, Losonsky GA, Thomas Jr W, Nichols R, Edelman R, Bridwell M, Monath TP. Safety and Immunogenicity of increasing doses of a *Clostridium difficile* toxoid vaccine administered to healthy adults. *Infect Immun* 2001; 69: 988-995.
- 40 Kyne L, Warny M, Qamar A, Kelly CP. Association between antibody response to toxin A and protection against recurrent *Clostridium difficile* diarrhoea. *Lancet* 2001; 357: 189-194.
- 41 Kyne L, Warny M, Qamar A, Kelly CP. Asymptomatic carriage of *Clostridium difficile* and serum levels of IgG antibody against toxin A. *N Engl J Med* 2000; 342: 390-6.
- 42 Landry ML, Topal J, Ferguson D, Giudetti D, Tang YJ. Evaluation of Biosite Triage *Clostridium difficile* panel for rapid detection of *Clostridium difficile* in stool samples. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 1855-8.
- 43 Larson HE, Borriello SP. Quantitative study of antibiotic-induced susceptibility to *Clostridium difficile* enterocolitis in hamsters. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; 34: 1348-54.
- 44 Larson HE, Price AB, Honour P, Boriello SP. *Clostridium difficile* and the etiology of pseudomembranous colitis. *Lancet* 1978; 1: 1063-6.
- 45 Limaye AP, Turgeon DK, Cookson BT, Fritsche TR. Pseudomembranous colitis caused by a toxin A-B+ strain of *Clostridium difficile*. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 1696-7.
- 46 Lysterly DM, Neville LM, Evans DT, Fill J, Allen S, Greene W, Sautter R, Hnatuck P, Torpey DJ, Schwalbe R. Multicenter evaluation of the *Clostridium difficile* TOX A/B TEST. *J Clin Microbiol*; 36:184-190.
- 47 Lysterly DM, Krivan HC, Wilkins, TD. *Clostridium difficile*: its disease and toxins. *Clin Microbiol Rev* 1988, 1: 1-18.
- 48 Lysterly DM, Saum KE, MacDonald DK, Wilkins TD. Effects of *Clostridium difficile* toxins given intragastrically to animals. *Infect Immun* 1985; 47: 349-52.
- 49 Mayfield JL, Leet T, Miller J, Mundy LM. Environmental control to reduce transmission of *Clostridium difficile*. *Clin Infect Dis* 2000; 31: 995-1000.
- 50 McFarland LV, Surawicz CM, Rubin M, Fekety R, Elmer GW, Greenberg RN. Recurrent *Clostridium difficile* disease: epidemiology and clinical characteristics. *Infect Contr Hosp Epidemiol* 1999; 20: 43-50.
- 51 McFarland LV, Surawicz CM, Greenberg RN, Fekety R, Elmer GW, Moyer KA, et al. A randomized placebo-controlled trial of *Saccharomyces boulardii* in combination with standard antibiotics for *Clostridium difficile* disease. *JAMA* 1994; 271: 1913-18.
- 52 McFarland LV, Mulligan ME, Kwok RYY, Stamm WE. Nosocomial acquisition of *Clostridium difficile* infection. *N Engl J Med* 1989; 320: 204-10.
- 53 Pavliakova D, Moncrief JS, Lysterly DM, Schiffman G, Bryla DA, Robbins JB, Schneerson R. *Clostridium difficile* recombinant toxin A repeating units as a carrier protein for conjugate vaccines: Studies of pneumococcal type 14, *Escherichia coli* K1, and *Shigella flexneri* Type 2a polysaccharides in mice. *Infect Immun* 2000; 68: 2161-6.
- 54 Pear SM, Williamson TH, Bettin KM, Gerding DN, Galgiani JN. Decrease in nosocomial *Clostridium difficile*-associated diarrhea by restricting clindamycin use. *Ann Intern Med* 1994; 120: 272-7.
- 55 Perelle S, Gibert M, Bourlioux P, Corthier G, Popoff MR. Production of a complete binary toxin (actin-specific ADP-ribosyltransferase) by *Clostridium difficile* CD196. *Infect Immun* 1997; 65: 1402-7.
- 56 Popoff MR, Rubin EJ, Gill M, Boquet P. Actin-specific ADP-ribosyltransferase produced by a *Clostridium difficile* strain. *Infect Immun* 1988; 56: 2299-2306.
- 57 Rafferty ME, McCormick MI, Bopp LH, Baltch AL, George M, Smith RP, Rheal C, Ritz W, Schoonmaker D. Vancomycin-resistant enterococci in stool specimens submitted for *Clostridium difficile* cytotoxin assay. *Infect Contr Hosp Epidemiol* 1997; 18: 342-5.
- 58 Roghmann MC, McCarter Jr RJ, Brewink J, Cross A, Morris Jr JG. *Clostridium difficile* infection is a risk factor for bacteraemia due to vancomycin-resistant enterococci (VRE) in VRE-colonized patients with acute leukemia. *Clin Infect Dis* 1997; 25: 1056-9.
- 59 Sambol SP, Merrigan MM, Tang JK, Johnson S, Gerding DN. Colonization for the prevention of *Clostridium difficile* disease in hamsters. *J Infect Dis* 2002; 186: 1781-9.
- 60 Shim JK, Johnson S, Samore MH, Bliss DZ, Gerding DN. Primary symptomless colonisation by *Clostridium difficile* and decreased risk of subsequent diarrhoea. *Lancet* 1998; 351: 633-6.
- 61 Silva Jr J. *Clostridium difficile* Nosocomial infections - still lethal and persistent. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1994; 15: 368-69.
- 62 Stubbs S, Rupnik M, Gibert M, Brazier J, Duerden B, Popoff M. Production of actin-specific ADP-ribosyltransferase (binary toxin) by strains of *Clostridium difficile*. *FEMS Microbiol Let* 2000; 186: 307-12.
- 63 Tang YJ, Gumerlock PH, Weiss JB, Silva Jr J. Specific detection of *Clostridium difficile* toxin A gene sequences in clinical isolates. *Mol Cell Probes* 1994; 8: 463-7.
- 64 Tedesco FJ, Barton RW, Alpers DH. Clindamycin-associated colitis: a prospective study. *Ann Intern Med* 1974; 81: 429-33.
- 65 Thomas C, Stevenson M and Riley TV. Antibiotics and hospital-acquired *Clostridium difficile*-associated diarrhoea: a systematic review. *J Antimicrob Chemother* 2003; 51: 1339-50.
- 66 Torres JF. Purification and characterization of toxin B from a strain of *Clostridium difficile* that does not produce toxin A. *J Med Microbiol* 1991; 35: 40-4.
- 67 Turgeon, DK, Novicki TJ, Quick J, Carlson L, Miller P, Ulness B, Cent A, Ashley R, Larson A, Coyle M, Limaye AP, Cookson BT, Fritsche TR. Six rapid tests for direct detection of *Clostridium difficile* and its toxins in fecal samples compared with the fibroblast cytotoxicity assay. *J Clin Microbiol*; 41: 667-70.
- 68 Verity P, Wilcox MH, Fawley W, Parnell P. Prospective evaluation of environmental contamination by *Clostridium difficile* in isolation side rooms. *J Hosp Infect* 2001; 49: 204-9.
- 69 Wilkins TD, Lysterly DM. *Clostridium difficile* testing: after 20 years, still challenging. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 531-4.
- 70 Wong SS-Y, Woo P C-Y, Luk W-K, Yuen K-Y. Susceptibility testing of *Clostridium difficile* against metronidazole and vancomycin by disc diffusion and Etest. *Bacteriol* 1999; 34: 1-6
- 71 Young G, McDonald M. Antibiotic-associated colitis: why do patients relapse? *Gastroenterol* 1986; 90: 1098-1099.
- 72 Zheng L, Keller SF, Lysterly DM. Evaluation of a screening test for detection of *Clostridium difficile* in fecal specimens. In Program and Abstracts of the 103rd General Meeting, American Society for Microbiology, May 18-22, 2003, Washington D.C. Abstract C-018.

Korrespondenzadresse:

PD Dr. med. Grit Ackermann
 Institut für Medizinische Mikrobiologie
 und Infektionsepidemiologie
 Universität Leipzig
 Liebigstr. 24
 04103 Leipzig
 Tel.: +49 341 9715200
 Fax: +49 341 9715209
 E-Mail: ackermg@medizin.uni-leipzig.de

BERUFSVERBAND DER ÄRZTE FÜR MIKROBIOLOGIE UND INFektionSEPIDEMIOLOGIE E. V.

- Bundesvorsitzender:* Prof. Dr. med. H. K. Geiss, Hygieneinstitut der Universität, MUA, Im Neuenheimer Feld 324, 69120 Heidelberg, Tel.: 06221 - 568317, Fax: 06221 - 563688, e-mail: Heiko_Geiss@med.uni-heidelberg.de
- Stellv. Vorsitzende:* Prof. Dr. med. Gottfried Mauff, Laborärztliche Gemeinschaftspraxis Dr. Kramer und Kollegen, Lauenburger Strasse 67, 21502 Geesthacht, Tel. 04152 – 803 147, Fax: 04152 – 803 347, e-mail: gmauff@ladr.de
Prof. Dr. med. Dieter Neumann-Haefelin, Institut für Med. Mikrobiologie und Hygiene, Abteilung Virologie, Hermann-Herder-Str. 11, 79008 Freiburg, Tel.: 0761/203-6600,-6601, Fax: 0761/203-6626, email: nehfr@ukl.uni-freiburg.de
- Schriftführerin:* Dr. med. Waltraud Römmmler, Gemeinschaftspraxis Dr. I. Kragenings, Dr. W. Römmmler und Koll., Sonnenstraße 19, 80331 München, Tel.: 089 - 55 143-0, Fax: 089 - 55 143-240
e-mail: waltraud-roemmler@gmx.net
- Schatzmeister:* Dr. med. Dr. rer. nat. A. Hartinger, Institut für Med. Mikrobiologie und Immunologie, Städt. Krankenhaus München-Harlaching, Sanatoriumsplatz 2, 81545 München, Tel.: 089 - 6210 2480, Fax: 089 - 6210 3024, e-mail: Anton.Hartinger@t-online.de

Impressum: DER MIKROBIOLOGE

Herausgeber: Berufsverband der Ärzte für Mikrobiologie und Infektionsepidemiologie e.V.
Bundesvorsitzender: Prof. Dr. med. H. K. Geiss, Hygieneinstitut der Universität, MUA, Im Neuenheimer Feld 324, 69120 Heidelberg, Tel.: 06221 - 568317, Fax: 06221 - 563688, e-mail: Heiko_Geiss@med.uni-heidelberg.de

Schriftleiter: Prof. Dr. F.- B. Spencker, Scheffelstraße 31a, 04277 Leipzig, Tel.: 0341 - 3012523, Fax: 0341 - 3081640, e-mail: spef@medizin.uni-leipzig.de

Redaktionsmitglieder: Dr. med. Frank Berthold, Frankfurt/Oder; Prof. Dr. med. Holger Blenk, Fürth; Prof. Dr. med. vet. Roswitha Füssle, Gießen; Dr. med. Dr. rer. nat. Anton Hartinger, München; Prof. Dr. med. Manfred Kist, Freiburg; Dr. med. Eberhard Kniehl, Karlsruhe; Dr. med. Paul C. Lück, Dresden; Prof. Dr. med. Axel Schmidt, Witten/Herdecke

Verlagsservice: Büro-, Verlags- und Tagungsservice Dagmar Strebel, Belfortstraße 10, 76133 Karlsruhe
Tel.: 0721 - 920 3436, Fax: 0721 - 920 3437, e-mail: bvt-dagmar-strebel@t-online.de

Die namentlich gekennzeichneten Beiträge geben nicht unbedingt die Meinung des Berufsverbandes wieder.
Die Zeitschrift und alle in ihr veröffentlichten Beiträge sind urheberrechtlich geschützt. Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit Genehmigung der Redaktion und mit Quellenangabe gestattet.

Erscheinungsweise: Zweimonatlich (6 Hefte jährlich)

Bezugsbedingungen: Bezugspreis ab 01.01.2002 jährlich 30,- Euro, Einzelpreis 6,50 Euro einschl. Versandkosten und MwSt. Für Mitglieder des Berufsverbandes ist der Bezugspreis im Mitgliedsbeitrag enthalten.

Bestellungen: Büro-, Verlags- und Tagungsservice Dagmar Strebel, Belfortstraße 10, 76133 Karlsruhe
Fax: 0721 - 920 3437, e-mail: bvt-dagmar-strebel@t-online.de

Das Abonnement verlängert sich jeweils um ein Jahr, sofern nicht eine Abbestellung bis zum 30. September des laufenden Jahres erfolgt.

ISSN 0943-674X
