

Diverse Sources of C. difficile Infection Identified on Whole-Genome Sequencing **D.W. Eyre et al., NEJM, 26. Sept. 2013, 369: 1195-1205**

Hintergrund

Die meisten C.difficile Episoden werden einer kürzlichen Transmission im Umfeld „health care setting“ zugeschrieben. Darum haben prophylaktische Massnahmen ihren Fokus einerseits auf symptomatische PatientInnen & deren unmittelbare Umgebung. Andererseits ist auch der überlegte Einsatz von Antibiotika in diesem Zusammenhang zu nennen.

Transmissionen zwischen Personen sind dokumentiert, aber es sind multiple andere Quellen denkbar: kolonisierte Personen ohne Symptome, Haustiere, Wasser oder Lebensmittel. Der Anteil dieser Quellen an den C. difficile Infektionen ist zwar unklar, jedoch aufgrund von Berichten über community-acquired C.difficile-Infektionen von grossem Interesse.

Ein Problem für die Erfassung von nosokomialen Übertragungen ist der häufig ähnliche Ribo- oder Genotyp (bei multi locus Sequenzierung). Auf der anderen Seite zeigt sich bei whole genome Sequenzierung, dass eine genetische Diversität existiert, weswegen mit dieser Methode nun das Ausmass von C. difficile Übertragungen von symptomatischen PatientInnen in einer definierten Gegend (Oxfordshire) studiert wurde.

Studienziel

Aufgrund von single nucleotide Variants (whole genome Sequenzierung) von C. difficile während eines Zeitraumes von 3.6 Jahren in einer definierten Gegend (Oxfordshire) den Anteil von identischen Isolaten beziffern.

Anhand von Hospitalisationsdaten und Wohnort epidemiologische Links ermitteln, die eine Transmission begünstigen.

Methoden

Population

- Oxford University Hospitals (4 Spitäler mit 1600 Betten, v.a. 4-er Zimmer, Abteilungsgrösse 20-30 Betten)
- Verantwortlich für die Akutversorgung und decken mind 90% der Gesundheitsaktivität in Oxfordshire ab (ca. 600'000 Einwohner)
- Spitalhygiene-Massnahmen gemäss Appendix (Kontakt-Isolation bei >2 ungeformten Stühlen in letzten 24h, eigenes WC, Iso-Fortsetzung bei Bestätigung und Entisolation erst 48 Stunden nach Erreichen einer normalen Stuhlkonsistenz. Reinigung täglich). → Monitoring durch Spitalhygiene
- Antibiotic Policy: Restriktion von Cephalosporinen und Chinolonen. CAP: Amoxicillin, Augmentin +/- Makrolid, UTI: Nitrofurantoin, Augmentin, Cellulitis: Flucloxacillin. Cephalosporin bei Penicillin-Allergie, Chinolone bei schwerer Betalaktam-Allergie. → Monitoring durch Kontrolle der Verordnungen.
- Zeitraum: September 2007 bis März 2011
- Diagnosestellung: 3 Stuhlproben von allen PatientInnen mit Diarrhoe → Toxin A/B-Nachweis mittels Immunoassay.

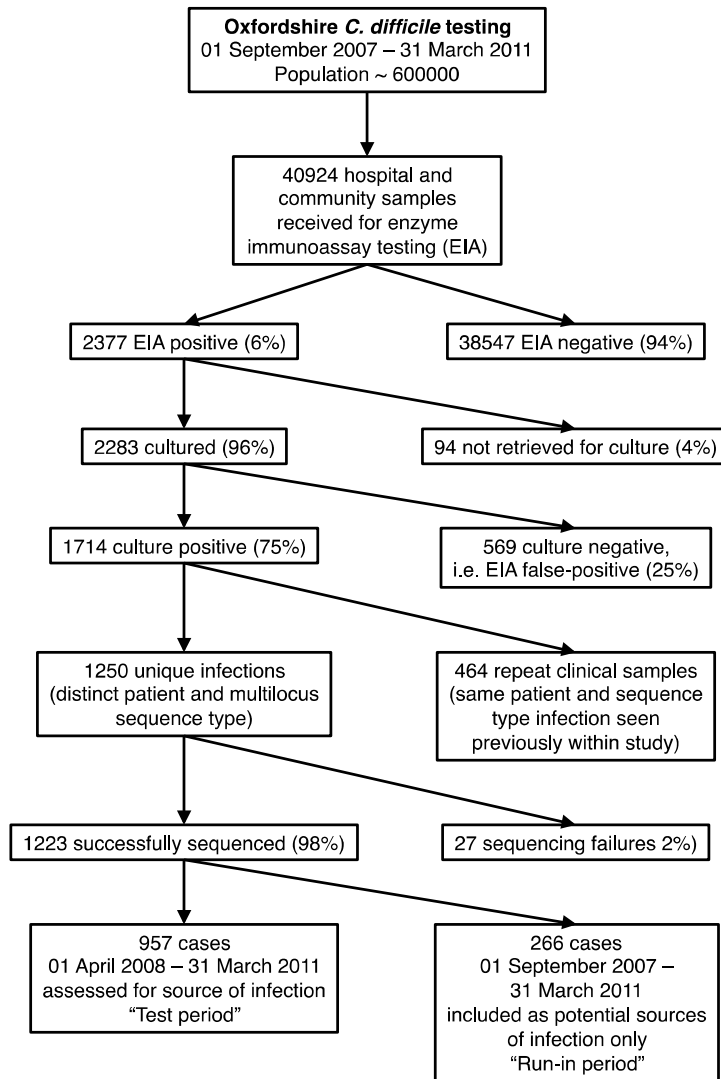
Verarbeitung

- C.difficile-Kultivierung von allen positiven Proben → subkultivierte Einzelkolonien wurden verarbeitet mittels multi locus Sequenzierung und whole genome Sequenzierung.
- C. difficile vom gleichen Patienten mit identischer multi locus Sequenzierung wurden nicht weiter verarbeitet ausser 148 Zufall-Sample-Paare (erstes und letztes Patienten-Sample) zur Abschätzung der Evolution von C. difficile → die genetische Diversität wurde mit dafür notwendige single nucleotide Variants (SNV) festgelegt.

Epidemiologische Analyse von genetisch identischen Erregern

- Annahme: Pat. infektiös 1 Woche vor und bis 8 Wochen nach Diagnosestellung, Inkubationszeit 0 bis 12 Wochen
- Stations-Kontakt, falls beide Pat. zur gleichen Zeit auf der gleichen Abteilung & Konsistenz bezüglich Infektiosität/Inkubationszeitraum
- Spital-Kontakt, falls beide Pat. zur gleichen Zeit im gleichen Spital & Konsistenz bezüglich Infektiosität/Inkubationszeitraum
- Stations-Kontamination, falls kein Stationskontakt, sondern 28 Tage Differenz zwischen Entlassung des 1. Patienten und Aufnahme des 2. Patienten
- Community-Kontakt: gleicher Hausarzt oder wohnhaft im gleichen Distrikt.

Resultate (Sept. 2007 bis März 2011) Figur S2 Appendix



Bei Diagnosestellung
- medianes Alter 78 Jahre
- Ribotyp
027 > 002/158 > 014/020/076/220

862 (71%) Spitäler stat. Pat. (Oxford)
246 (20%) Praxen
60 (5%) ambulante Pat. (Oxford)
55 (4%) andere Spitäler

September 2007 bis März 2008
- 266 Isolate
- Run in period

Genetische Diversität

- Evolutions-Rate 0.74 SNV pro Jahr, mean host Diversität 0.3 SNV →
- Gleicher Stamm: 0-2 SNV in Proben bis 124 Tagen auseinander
- 0-3 SNV in Proben 124-364 Tage auseinander

Figur 1 A: Genetische Identität in den getesteten Isolaten

- 957 Isolate → 333 (35%) genetisch identisch (definiert max 2 SNV) = Transmission
- 428 (45%) mehr als 10 SNV (genetisch verschieden)

Figur 1B, Tabelle 1: Epidemiologische Analyse zwischen genetisch ähnlichen Isolaten (in Figur1B: graphische Darstellung, in Tabelle1: 0-2 SNV vs. 0 SNV vs. 0-10 SNV)

→ Bei 0- 2 SNV als Definition für genetisch identische Isolate (n=333)

- 126 (38%) Stationskontakt
- 5 (2%) Stationskontamination
- 29 (9%) Spitalkontakt
- 21 (6%) Stationskontamination und Spitalkontakt
- 15 (10%) gleicher Hausarzt
- 17 (11%) gleicher Distrikt
- 120 (36%) kein Kontakt erudierbar

- ähnliches Resultat bei 0 SNV oder max 10 SNV als Definition für genetisch identische Isolate
- immer noch 48 Fälle von genetischer Identität nach Ausschluss von möglicher Laborkontamination, gemeinsamer Kontaktpatient (der negativ getestet wurde, aber evt. falsch negativ), gemeinsame(r) Kontaktperson/-patient (nicht-getestet, möglicher asymptomatischer Träger), Inkubation unlimitiert, Kontamination unlimitiert

Figur 3: Auftreten von genetisch definierten C. difficile-Clustern (= Subtypen mit Differenz von > 10 SNV)

- Variabilität bezüglich Anzahl Isolate und Periodizität (Clusterhaftes Auftreten, aber auch Auftreten erst wieder nach 1 Jahr und nur in Einzelfällen)

Figur 4A/B:

- keine Differenz in der Isolierung von genetisch nicht-identischen versus genetisch identischen Isolaten in der Zeitachse
Hypothese, dass die genetisch identischen Isolate dank der üblichen Interventionen weniger übertragen werden als die genetisch nicht-identischen Isolate nicht bestätigt.

Figur 4C/D:

- Genetisch identische Isolate wurde in der Zeitachse weniger nachgewiesen bei Pat. mit Spitalkontakt (versus kein Spitalkontakt), vor allem der Ribotyp 027.

Diskussion/Limitationen

- 3.6 Jahre dauernd, mehr als 1200 symptomatische Pat., definierte Region mit typischer Inzidenz, Standardmassnahmen bezüglich Spitalhygiene, Dx mittels Toxin-Nachweis → 35% der Isolate waren genetisch identisch zu einem früheren Isolat.
- bezüglich Epidemiologie konnte bei 13%, bzw. 19% der identischen Isolate ein Abteilungs-, bzw. Spitalkontakt eruiert werden.
- 45% aller Isolate hatten eine hohe genetische Diversität (definiert als SNV von mind. 10 zu einem früheren Isolat)
- eine Akquisition ausserhalb von Oxfordshire ist möglich, aber aufgrund des relativ hohen Alters der PatientInnen ist die Transmission durch asymptomatische Träger oder ein anderes Reservoir wahrscheinlicher, nicht zuletzt aufgrund von kontinuierlichem Nachweis von nicht-identischen Isolaten während der ganzen Studie und dem clusterhaften Auftreten von ähnlichen Subtypen
- der hohe Anteil von genetisch nicht-identischen Isolaten spricht dafür, dass neben der Transmissionsreduktion von symptomatischen Pat. (Spitalhygiene-Massnahmen) auch die Verringerung der Krankheits-Suszeptibilität (durch Gebrauch von (wenigen?, bestimmten?) Antibiotika) Erfolg haben könnte.
- Diagnose mittels Toxin- und nicht mittels Antigen-Nachweis → Sensitivität kleiner.
- Basis für genetische Identität in Sporen-Formen whs. nicht gleich wie in vegetativen Formen
- Mischinfektionen evt. undetektiert (andere bakt. Erreger, anderes C. difficile)
- Keine Samples von asymptomatischen Erwachsenen und Kindern oder aus der Umgebung (Wasser, Lebensmittel).
- im Rahmen eines Outbreaks-Settings evt. andere Subtypen prädominant
- unklar bleibt, ob bei den Pat. eine nosokomiale Übertragung stattgefunden hat oder ob sie bereits – asymptomatische - Carrier waren bei Spital-Eintritt.