

Aus dem Zentrum für Innere Medizin der Universität zu Köln

Klinik und Poliklinik für Innere Medizin I

Hämatologie und Onkologie

Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. M. Hallek

Infektionen mit *Clostridium difficile* bei Hochrisikopatienten im Rahmen der
allogenen Stammzelltransplantation und intensiven zytostatischen
Therapie der akuten myeloischen Leukämie

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Universität zu Köln

vorgelegt von

David Weitershagen
aus Rheinbach

promoviert am 23. November 2016

Gedruckt mit der Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität zu Köln
(November 2016)

Die dieser Arbeit zugrunde liegenden Messergebnisse wurden, abgesehen von den oben genannten Leistungen, ohne Mitarbeit anderer ermittelt.

Die konzeptionelle Arbeit erfolgte in Zusammenarbeit mit Frau Privatdozentin Dr. med. M. J. G. T. Vehreschild.

Danksagung:

Ich danke Frau Privatdozentin Dr. med. M. J. G. T. Vehreschild für die gute und langjährige Betreuung, für jede Hilfestellung und Anregung.

Für tolle Unterstützung während des Studiums und der Promotion danke ich meinen Eltern. Vielen Dank an meine liebe Mignon, an Benno und an meine Freunde.

Kurzfassung der Dissertationsschrift

Infektionen mit *Clostridium difficile* bei Hochrisikopatienten im Rahmen der allogenen Stammzelltransplantation und intensiven zytostatischen Therapie der akuten myeloischen Leukämie

von David Weitershagen

Aus dem Zentrum für Innere Medizin der Universität zu Köln
Klinik und Poliklinik für Innere Medizin I, Hämatologie und Onkologie
Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. M. Hallek

Einleitung: Zum Auftreten von *Clostridium difficile*-Infektionen, einer häufigen Ursache für nosokomial erworbene Enterokolitis und Diarrhoe, bei hämatologischen Hochrisikopatienten liegen bislang nur begrenzte Untersuchungen vor. Insbesondere die Inzidenz von CDI und die mit der Erkrankung assoziierten Risikofaktoren werden in der Literatur bislang sehr unterschiedlich beschrieben. Gleiches gilt für einen möglichen Zusammenhang zwischen CDI und dem Krankheitsbild der Graft-versus-Host-Krankheit, welches eine relevante Komplikation nach allogener Stammzelltransplantation darstellt.

Methodik: Die Datenerhebung erfolgte retrospektiv aus der Datenbank „Cologne Cohort of Neutropenic Patients“, mit Hilfe derer eine umfassende Dokumentation aller relevanten Patientendaten und klinischer Parameter erfolgte. Eingeschlossen wurden Patienten, die im Rahmen einer allo-SZT hospitalisiert waren und Patienten, die aufgrund einer AML stationär mit einem entsprechenden Chemotherapie-Protokoll behandelt wurden. Es wurde der Zeitraum von Januar 2007 bis August 2010 erfasst. Die Risikofaktoranalyse wurde mittels logistischer Regressionsanalyse durchgeführt ($P < 0.1$).

Ergebnisse: Es konnten 310 Aufenthalte von 153 AML-Patienten und 229 Aufenthalte von 223 allo SZT-Patienten analysiert werden. Die ermittelte Inzidenz von CDI betrug 17,9 pro 10.000 Patiententage für AML-Patienten und 27,4 für allo SZT-Patienten. In beiden Patientengruppen wurde eine Exposition gegenüber Carbapenemen als Risikofaktor für CDI ermittelt (OR 2,2 für AML- und 1,4 für allo SZT-Patienten). Eine CDI im selben Aufenthalt wurde (u.a.) als Risikofaktor für das Auftreten von aGvHD ermittelt (odds ratio: 3.3).

Diskussion: Die ermittelte Inzidenz von CDI findet weitestgehende Übereinstimmung mit den Ergebnissen mehrerer vorheriger Studien und scheint damit, gegenüber der Inzidenz bei hospitalisierten Patienten insgesamt, deutlich erhöht zu sein. Der Einsatz von Carbapenem-Antibiotika als Risikofaktor konnte in diesem Zusammenhang erstmals ermittelt werden. Eine Störung in der Zusammensetzung der Darmmikrobiota nach Gabe von Breitspektrum-Antibiotika scheint hier eine wichtige Rolle zu spielen. Nach aktuellen Untersuchungen ergibt sich an dieser Stelle auch ein möglicher Zusammenhang mit dem erhöhten Risiko für eine aGvHD.

Schlussfolgerung/Ausblick: Strategien zum rationalen Einsatz von Antibiotika („antibiotic stewardship intervention“) mit dem Ziel eines begrenzten Einsatzes von Carbapenem-Antibiotika bei hämatologischen Hochrisikopatienten stellen einen möglichen Ansatzpunkt für künftige Untersuchungen dar. Der Effekt einer solchen Strategie auf das Auftreten von CDI könnte in einer folgenden Studie untersucht werden.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	III
1 Einleitung.....	1
1.1 Clostridium difficile-Infektion	1
1.1.1 Definition.....	1
1.1.2 Bakterium.....	1
1.1.3 Pathogenese	2
1.1.4 Klinisches Bild.....	2
1.1.5 Epidemiologie.....	3
1.1.6 Risikofaktoren.....	5
1.1.7 Diagnostik	6
1.1.8 Therapie.....	7
1.1.9 CDI bei Patienten mit hohem Risiko für nosokomiale Infektionen.....	8
1.2 Akute myeloische Leukämie	9
1.2.1 Erkrankung und Therapie.....	9
1.2.2 Infektionen als Komplikation bei Patienten mit AML während und nach Chemotherapie.....	10
1.2.3 CDI bei AML-Patienten	11
1.3 Allogene Stammzelltransplantation.....	12
1.3.1 Transplantation von hämatopoetischen Stammzellen.....	12
1.3.2 Spender	13
1.3.3 Konditionierung	13
1.3.4 Graft-versus-Leukemia/ Graft-versus-Tumor-Effekt.....	15
1.3.5 Immunsuppression und Rekonstitution des Immunsystems nach allogener SZT	15
1.3.6 Komplikationen nach allo SZT.....	16
1.3.7 Die Graft-versus-Host-Krankheit.....	16
1.3.8 Infektionen als Komplikation im Rahmen der allo SZT.....	19
1.3.9 CDI nach allogener Stammzelltransplantation	20
1.4 Fragestellung:	22

2 Publikation	23
3 Diskussion	29
3.1 Inzidenz von CDI.....	29
3.2 Risikofaktoren.....	31
3.3 CDI und Graft-versus-Host Disease	36
3.4 Antibiotische Therapie.....	39
4 Zusammenfassung	42
5 Literaturverzeichnis	44
6 Anhang	53
6.1 Abbildungsverzeichnis.....	53
7 Lebenslauf	54

Abkürzungsverzeichnis

ALL	Akute lymphatische Leukämie
AML	Akute myeloische Leukämie
APC	Antigenpräsentierende Zellen (engl.: antigen-presenting cells)
<i>C. diff.</i>	<i>Clostridium difficile</i>
CB	Nabelschnurblut (engl.: cord blood)
CDI	<i>Clostridium difficile</i> -Infektion
CI	Konfidenzintervall (engl.: confidence interval)
CML	Chronische myeloische Leukämie
CMV	Cytomegalie-Virus
CR	Komplette Remission (engl.: complete remission)
EBV	Epstein-Barr-Virus
ESBL	Betalaktamase mit erweitertem Spektrum (engl.: extended spectrum beta-lactamase)
FUO	Fieber unbekannter Genese (engl.: fever of unknown origin)
GCSF	Granulozyten-Kolonie stimulierender Faktor (engl.: granulocyte-colony stimulating factor)
GM-CSF	Granulozyten Makrophagen-Kolonie stimulierender Faktor (engl.: granulocyte-macrophage-colony stimulating factor)
GvHD	Graft-versus-Host-Krankheit (engl.: graft-versus-host disease)
- aGvHD	Akute Graft-versus-Host-Krankheit
- cGvHD	Chronische Graft-versus-Host-Krankheit
GvL-/GvT-Effekt	Graft-versus-Leukämie-/ Graft-versus-Tumor-Effekt (engl.: graft-versus-leukemia- / graft-versus-tumor-effect)
HD	Hodgkin-Lymphom (engl.: Hodgkin's disease)
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
HLA	Humanes Leukozytenantigen
HSZT	Hämatopoetische Stammzelltransplantation
MAC	Myeloablative Konditionierung (engl.: myeloablative conditioning)
MHC	Haupthistokompatibilitätskomplex (engl.: major histocompatibility complex)

Abkürzungsverzeichnis

MDS	Myelodysplastisches Syndrom
MRD	Passender verwandter Spender (engl.: matched related donor)
MUD	Passender nichtverwandter Spender (engl.: matched unrelated donor)
NHL	Non-Hodgkin-Lymphom
PBSCT	Periphere Blutstammzelltransplantation (engl.: peripheral blood stemm cell transplantation)
PCR	Polymerase-Kettenreaktion (englisch: polymerase chain reaction)
PFGE	Puls-Feld-Gelelektrophorese (engl.: pulsed-field gel electrophoresis)
PPI	Protonenpumpen-Inhibitor
RF	Risikofaktor
RIC	Dosisreduzierte Konditionierung (engl.: reduced-intensity conditioning)
RR	Relatives Risiko
rRNA	Ribosomale RNA
Spp.	Spezies
TBI	Ganzkörperbestrahlung (engl.: total body irradiation)
TcdA	Enterotoxin A
TcdB	Cytotoxin B
VRE	Vancomycin-resistente Enterokokken

1 Einleitung

1.1 Clostridium difficile-Infektion

1.1.1 Definition

Eine *Clostridium difficile*-Infektion (CDI) ist eine infektiöse Darmerkrankung, die durch Toxin produzierende Stämme des Bakteriums *Clostridium difficile* (*C. diff.*) hervorgerufen wird.

Als Diagnosekriterien für die CDI gelten:

- a) Auftreten von Diarrhoe (definiert als drei oder mehr unformte Stühle innerhalb von 24 Stunden), ein Ileus oder ein toxischen Megakolons in Kombination mit
- b) Vorliegen eines positiven Tests auf Toxin produzierende *C. diff.*-Bakterien im Stuhl oder
- c) endoskopische oder histopathologische Diagnose des typischen Bildes der pseudomembranösen Kolitis (Bauer *et al.* 2009).

1.1.2 Bakterium

C. diff. ist ein obligat anaerob wachsendes, stäbchenförmiges, Gram-positives Bakterium. Es gehört zur den *Clostridien*, einer Gruppe von Bakterien, die als Erreger verschiedener Erkrankungen eine Rolle spielen. Im aeroben Milieu bildet das Bakterium Sporen und ist in diesem Zustand resistent gegen Sauerstoff und schädliche Einflüsse aus der Umgebung (Robert-Koch-Institut 2011).

1935 entdeckten Hall und O'Toole das Bakterium als „*Bacillus difficile*“ in der Darmflora von Neugeborenen (Hall *et al.* 1935). Später beschrieben verschiedene Autoren einen möglichen Zusammenhang zwischen einer Infektion mit *C. diff.* und dem Auftreten von Durchfallerkrankungen, insbesondere der sogenannten pseudomembranösen Kolitis, bei Patienten, die zuvor mit Antibiotika therapiert worden waren. Erst 1978 gelang der Forschungsgruppe um Bartlett zum ersten Mal der Nachweis der *C. diff.* Toxine (Bartlett *et al.* 1978), welche zur Schädigung der Darmschleimhaut und zur klinischen Manifestation der CDI führen.

1.1.3 Pathogenese

Die Bakterien, die sich nach fäkal-oraler Übertragung im Darm vermehren, bilden die zwei Toxine: Enterotoxin A (TcdA) und Cytotoxin B (TcdB), welche die Darmschleimhaut direkt schädigen. Als pathogen gelten Erreger, welche beide Toxine oder nur das Toxin B produzieren (Weinke *et al.* 2008). Daneben gilt die Produktion des sogenannten „binären Toxins“ in einigen *C. diff.*-Stämmen, insbesondere auch beim PCR Ribotyp 027/ PFGE Typ NAP1 (in der Folge als RT027-Stamm bezeichnet), als zusätzlicher Virulenzfaktor. Das binäre Toxin zeigt *in vitro* eine toxische Wirkung auf die Darmschleimhaut, in Abwesenheit der beiden anderen Toxine scheint es jedoch *in vivo* keinen Effekt zu besitzen. Es wird ein sich gegenseitig verstärkender Effekt zwischen TcdA und TcdB auf der einen und dem binären Toxin auf der anderen Seite vermutet. Das regulatorische Protein TcdC inhibiert in den pathogenen *C.diff.*-Stämmen die Transkription der Gene, welche für TcdA und TcdB codieren. Damit nimmt es entscheidenden Einfluss auf die Toxin-Produktion (Kelly *et al.* 2008).

Wegbereitend für die klinisch manifeste Infektion ist zumeist eine Störung der Zusammensetzung der residenten Darmmikrobiota. Letztere resultiert in der Regel aus der Gabe von Antibiotika, welche eine signifikante Reduktion der Diversität der Darmflora induzieren können. Entsteht in diesem sensiblen Milieu, in dem ständig komplexe Interaktionen der Kommensalen mit ihrer Umgebung stattfinden, ein Ungleichgewicht, so kann dies zur Kolonisierung mit und pathogenen Wirkung von *C. diff.* beitragen (Seekatz *et al.* 2014, Bahrani-Mougeot *et al.* 2009, Weinke *et al.* 2008) (s. Abbildung 2). Die Fähigkeit ausgewählter Bakteriengruppen, aber insbesondere *C. scindens*, zur Umwandlung primärer in sekundäre Gallensäuren wurde erst kürzlich als wichtiger protektiver Faktor identifiziert. Dabei scheint die Anwesenheit sekundärer Gallensäuren das Wachstum vegetativer Clostridien zu hemmen (Buffie *et al.* 2015). Doch auch andere Wirtsfaktoren wie Erkrankungen des Intestinaltraktes, Operationen oder eine Immunsuppression können die Entwicklung einer CDI maßgeblich beeinflussen (Weinke *et al.* 2008).

1.1.4 Klinisches Bild

Im Anschluss an eine neu aufgetretene Kolonisierung mit *C. diff.* kommt es nicht zwingend zu einer klinischen Manifestation, auch eine asymptomatische Form der reinen Kolonisierung ist möglich (Burke *et al.* 2014).

Bei klinischer Manifestation kommt es typischerweise zu wässrigen Durchfällen unterschiedlicher Frequenz in Kombination mit krampfartigen Unterbauchschmerzen, und ggf. erhöhter Temperatur (LaMont 2012). Die Diarrhoe beginnt zumeist während oder kurz nach einer antibiotischen Therapie und ist das führende Symptom. In leichten Fällen sistiert sie bereits nach Absetzen des Antibiotikums. In 1 – 3 % der Fälle verläuft die Erkrankung jedoch schwer mit massiver Diarrhoe, hohem Fieber, diffusen abdominellen Schmerzen und geblähtem Abdomen. Ein mit *C. diff.* assoziiertes Krankheitsbild ist das der pseudomembranösen Kolitis mit Ausbildung typischer Fibrinmembranen auf der Kolonschleimhaut. Kommt es zusätzlich durch Toxineinwirkung zur Lähmung der glatten Muskulatur im Kolon und damit zu einer massiven Dilatation, so spricht man von einem toxischen Megakolon mit der Möglichkeit einer Perforation. Diese und andere schwere Verlaufsformen sind assoziiert mit einer Mortalität von 20-40%. Ursachen hierfür sind Peritonitis, Sepsis und Schock (Rupnik *et al.* 2009, Kuijper *et al.* 2007).

Eine Komplikation, die bei ca. 20% der Fälle auftritt, ist das Wiederauftreten der Erkrankung nach zunächst erfolgreicher Therapie. Man spricht auch von einem CDI-Rückfall oder einer rezidivierender CDI, wenn binnen acht Wochen nach initial erfolgreicher Therapie erneut Symptome auftreten. Meist handelt es sich dabei um eine Reaktivierung nach Umwandlung der Sporen in die vegetative Zellform, doch nicht selten handelt es sich auch um eine Infektion mit einem neuen *C. diff.*-Stamm (Barbut *et al.* 2000).

1.1.5 Epidemiologie

Die Verbreitung von *C. diff.* und das Auftreten von CDI ist starken regionalen und intra-institutionellen Schwankungen unterworfen. Sie hängt unter anderem von den hygienischen Verhältnissen und dem Einsatz von Antibiotika ab. In 10-25% der Fälle lassen sich bei Antibiotika-assoziiierter Diarrhoe die *C. diff.*-spezifischen Toxine TcdA und TcdB nachweisen, ein Großteil dieser Durchfallerkrankungen bleibt jedoch ätiologisch ungeklärt (Weinke *et al.* 2008). Unter gesunden Erwachsenen beträgt die Rate von asymptomatischen *C. diff.* Trägern etwa 3%, im Vergleich dazu findet man unter hospitalisierten Patienten eine Rate von 20-40% (Bartlett 2006). Bauer *et al.* berichten über eine mittlere Inzidenz der CDI von 4 pro 10.000 Patienten-Tage bei hospitalisierten Patienten in europäischen Krankenhäusern (Bauer *et al.* 2011). Zu einer

außerhalb vom Krankenhaus erworbenen CDI kommt es eher sporadisch und diese verläuft seltener schwer (Khanna *et al.* 2012).

Die Anzahl der berichteten Fälle von CDI nimmt seit Jahren deutlich zu. So berichten Burckhardt *et al.* von einem Anstieg der Inzidenz in Sachsen von 1,7 bis 3,8 Fälle pro 100.000 Einwohner in 2002 auf 14,8 Fälle pro 100.000 Einwohner in 2006 (siehe Abb. 1) (Burckhardt *et al.* 2008). In den USA stieg die nach Klinikaufenthalten ermittelte Inzidenz von CDI von 31 pro 100.000 Einwohner im Jahr 1996 auf 61 pro 100.000 Einwohner im Jahr 2003 (McDonald *et al.* 2006). Ursachen hierfür könnten ein zunehmender Einsatz von Antibiotika, eine höhere Zahl älterer, multimorbider Menschen in der Bevölkerung, aber auch Veränderungen in den Virulenzfaktoren der Bakterien sein.

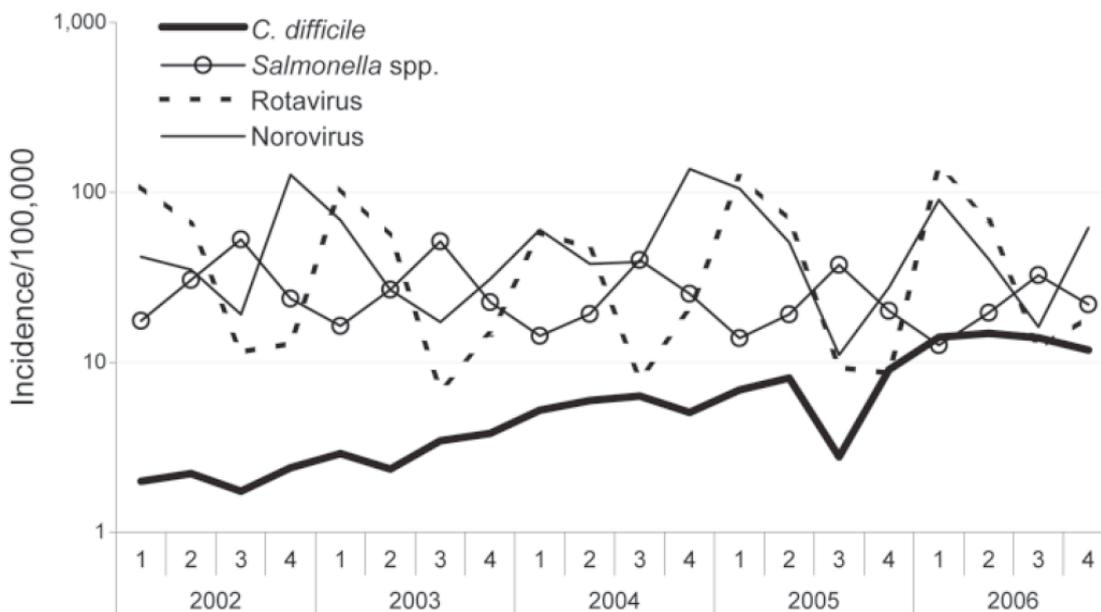


Abbildung 1 - Quartals-Inzidenz von CDI pro 100.000 Einwohner in Sachsen, Deutschland, 2002-2008. Dargestellt im Vergleich zu gastrointestinalen Infektionen durch *Salmonella* Spp., Rotaviren und Noroviren, logarithmische Skala auf der y-Achse. (Burckhardt *et al.* 2008)

Im Jahr 2005 wurde z.B. ein neuer *C.diff.*-Stamm entdeckt, der für eine Großzahl von Infektionen bei Ausbrüchen in Nordamerika und Europa verantwortlich war und weiterhin ist (Kuijper *et al.* 2006, Filipovich *et al.* 2005).

Der RT027-Stamm ist aufgrund bestimmter genetischer Veränderungen in der Lage, größere Mengen TcdA und TcdB zu bilden, sowie das binäre Toxin (s.o.). Diese Faktoren könnten eine Erklärung dafür sein, dass Infektionen in Verbindung mit diesem Stamm häufiger schwer verlaufen, im Durchschnitt länger andauern und es häufiger zu Rezidiven kommt. Er ist häufiger resistent gegen bestimmte Antibiotika-Gruppen wie Makrolide oder Fluorchinolone (Barbut *et al.* 2007, Kuijper *et al.* 2006). Merrigan *et al.* identifizierten neben dem veränderten Muster in der Toxin-Produktion eine vermehrte Sporenbildung bei sogenannten „hypervirulenten“ *C. diff.*-Stämmen als möglichen Virulenzfaktor (Merrigan *et al.* 2010).

Die Ausbreitung der neuen hypervirulenten Stämme in Deutschland und Europa ist, u.a. aufgrund der nicht bestehenden Meldepflicht für nicht schwere Verläufe von CDI schwer zu erfassen (Robert-Koch-Institut 2011). Die genotypische Typisierung eines *C.diff.*-Stammes ist nur in spezialisierten Laboren möglich und bleibt derzeit häufig auf Fälle mit schwerem oder kompliziertem Verlauf begrenzt (Mock *et al.* 2013).

Bauer *et al.* fanden in einer umfangreicheren Untersuchung von hospitalisierten Patienten in ganz Europa bei 5% der an CDI erkrankten Patienten den RT027-Stamm (Bauer *et al.* 2011). Die retrospektive Analyse von 238 *C. diff.*-Isolaten aus dem gesamten Bundesgebiet, die von 2011 bis 2013 in einem Konsiliarlabor (Universitätsklinikum des Saarlandes) untersucht wurden, lässt auf eine weitreichende, wenn auch regional sehr unterschiedlich ausgeprägte Ausbreitung der hypervirulenten Stämme schließen (Mock *et al.* 2013).

1.1.6 Risikofaktoren

Verschiedene Faktoren können als Auslöser einer CDI eine Rolle spielen. Einen entscheidenden Einfluss hat in der Regel die vorausgegangene Therapie mit einem Antibiotikum und in selteneren Fällen mit einem Zytostatikum innerhalb von 8 Wochen vor Ausbruch der Erkrankung (Slimings *et al.* 2014, Lo Vecchio *et al.* , Cohen *et al.* 2010, Dubberke *et al.* 2007). Jedes Antibiotikum kann wegbereitend für eine CDI sein, besonders häufig wird sie jedoch in Verbindung mit Cephalosporinen, Clindamycin, Carbapenemen und zunehmend auch Fluorchinolonen beobachtet (Slimings *et al.* 2014, Baxter *et al.* 2008, Dial *et al.* 2008). Zunehmende Resistenzen von *C. diff.*-Stämmen gegenüber Fluorchinolonen scheinen hierbei eine Infektion zu begünstigen (Rupnik *et al.* 2009). Seltener lösen Penicilline, Makrolide, Trimethoprim/Sulfomethoxazol oder Tetracykline eine CDI aus (Slimings *et al.* 2014, Dial *et al.* 2008).

Der Aufenthalt in einem Krankenhaus oder einer Pflegeeinrichtung begünstigt eine Infektion mit *C. diff.* ebenfalls. So ließ sich in einer britischen Studie bei etwa einem Drittel der CDI-Fälle ein vorausgegangener Krankenhaus-Kontakt als Übertragungsweg der Bakterien ermitteln. Erstaunlicherweise fand sich in 45% der Fälle mittels genetischer Typisierung des Bakterien-Stammes kein CDI-Fall mit dem gleichen Typ in der Umgebung des Patienten (Eyre *et al.* 2013). Anders als früher vermutet scheint also die Aufnahme der Sporen aus verschiedenen Quellen wie aus der Umwelt, nicht-symptomatischen, kolonisierten Patienten oder aus Nahrungsmitteln eine große Rolle zu spielen.

Die äußerst umweltresistenten Sporen können wochenlang auf Oberflächen überleben und sind mit üblichen Desinfektionsmaßnahmen häufig nicht zu entfernen (Verity *et al.* 2001). Es verwundert also kaum, dass die Rate von Kolonisierten in der Umgebung des Patienten einen Einfluss auf die Erkrankungswahrscheinlichkeit hat (Dubberke *et al.* 2007).

Weitere, im Zusammenhang mit CDI häufig genannte Risikofaktoren beinhalten höheres Alter, bestehende Komorbiditäten, Immunsuppression, maligne Grunderkrankung, eine Chemotherapie sowie Organ- oder Stammzelltransplantation (Lo Vecchio *et al.*, Loo *et al.* 2011, Dubberke *et al.* 2007, Kyne *et al.* 2002). Die Gabe von Suppressoren der Magensäure, insbesondere Protonenpumpeninhibitoren (PPI), scheint bei hospitalisierten Patienten ein Risikofaktor zu sein, auch wenn dieser Umstand kontrovers diskutiert wird (Aseeri *et al.* 2008, Dial *et al.* 2004).

1.1.7 Diagnostik

Die Diagnose „*Clostridium difficile*-Infektion“ sollte nach der o.g. Definition nur in Zusammenschau von klinischem Befund und mikrobiologischem Nachweis erfolgen.

Der Nachweis von *C. diff.* als Ursache einer Diarrhoe gelingt in der Regel mit Hilfe des Nachweises der Toxine A und/oder B im Stuhl des Patienten. Ein gängiges Verfahren hierfür stellen kommerzielle Enzymimmunoassays dar. Da einige Stämme nur Toxin B produzieren, sollten Tests eingesetzt werden, die beide Toxine nachweisen (Schaumann *et al.* 2009, AWMF 2006). Diese Tests sind sowohl schnell verfügbar als auch günstig und werden deshalb in der klinischen Praxis am häufigsten verwendet. Sie besitzen allerdings lediglich eine Sensitivität von 63-94% (Robert-Koch-Institut 2011, Cohen *et al.* 2010). Der Nachweis des bei *Clostridien*-Stämmen vorkommenden Glutamat-Dehydrogenase-Enzyms mittels Enzymimmunoassay weist hingegen eine hohe

Sensitivität von 85-95% auf. Aufgrund des hohen negativ prädiktiven Wertes kann der Test sehr gut als „Screening“ eingesetzt werden (Cohen *et al.* 2010). Goldstandard in der Diagnostik ist der Zytotoxizitätstest mit hoch sensitivem und spezifischem Nachweis von Zytotoxin B mittels direkten Nachweises der Zytotoxizität in einer Zellkultur. Allerdings ist dieser Test sehr aufwendig, sodass er nur in speziellen Laboren durchgeführt wird (Robert-Koch-Institut 2011, AWMF 2006). Der Nachweis von Toxin-bildenden Bakterien kann auch mittels kultureller Anzucht und anschließendem Toxin-Nachweis erfolgen, was allerdings zwei bis drei Tage Zeit benötigt. Die Stuhlkultur ist dennoch wichtig für die Bestimmung von Antibiotika-Resistenzen und die Erregertypisierung, insbesondere im Hinblick auf Ausbrüche von CDI (Robert-Koch-Institut 2011). Neuere molekularbiologische Verfahren wie die Realtime-PCR und die Multiplex-PCR erkennen für die Bildung von Toxin-A und/oder -B notwendige Gene. Sie sind sowohl sehr sensibel als auch spezifisch, weshalb sie in der Klinik immer häufiger zur Anwendung kommen (Surawicz *et al.* 2013, Robert-Koch-Institut 2011, Schaumann *et al.* 2009). Die PCR, der Nachweis des Glutamat-Dehydrogenase-Enzyms und die kulturelle Anzucht der Bakterien beweisen nicht die Präsenz von freiem Toxin im Stuhl als Ursache für die Symptome. Es kann also nicht exakt zwischen Kolonisation und aktueller Toxin-Wirkung unterschieden werden. Zur Sicherung der Diagnose wird ein zweistufiges Testverfahren mit einer Kombination von TcdA/TcdB-Enzymimmunoassay auf der einen und PCR, Zytotoxizitätstest oder Nachweis des Glutamat-Dehydrogenase-Enzyms auf der anderen Stufe empfohlen (Crobach *et al.* 2009).

Die Diagnose „pseudomembranöse Colitis“ wird endoskopisch im Rahmen einer Sigmoidoskopie bzw. Koloskopie oder durch die histopathologische Untersuchung von hierbei entnommenem Probematerial gestellt (Cohen *et al.* 2010).

1.1.8 Therapie

Seit vielen Jahren sind zwei Antibiotika als Standard in der Behandlung von CDI etabliert: Vancomycin wurde erstmals 1981 als bei dieser Erkrankung sehr wirksames Antibiotikum beschrieben (Silva *et al.* 1981). Für Metronidazol konnte kurze Zeit später ein gleichwertiger Effekt nachgewiesen werden (Teasley *et al.* 1983).

Nach aktuellen Empfehlungen sollte bei Patienten, die an einer CDI erkrankt sind, zunächst die Schwere der Erkrankung eingeschätzt werden. Dabei sollte zwischen einer milden bis moderaten und einer schweren Infektion unterschieden werden. Bei milder bis moderater CDI wird mit Metronidazol p.o. für zehn Tage behandelt, kommt es

hierunter nicht zu einer klinischen Besserung oder liegt eine schwere Infektion vor, sollte mit Vancomycin p.o. behandelt werden. Ist keine orale Therapie möglich, so muss Metronidazol i.v., in schweren Fällen kombiniert mit Vancomycin (über Einläufe oder eine Magensonde), verabreicht werden (Bauer *et al.* 2009). In neueren Untersuchungen konnte für das Antibiotikum Fidaxomicin ein gleichwertiger Effekt im Vergleich zu Vancomycin bei niedrigerer Rate von CDI-Rezidiven nachgewiesen werden (Cornely *et al.* 2012, Louie *et al.* 2011).

Bei Auftreten eines Rezidivs wird eine erneute antibiotische Therapie mit Vancomycin oder Fidaxomicin empfohlen. Bei einem erneuten Rezidiv kann außerdem die Verabreichung von Vancomycin nach einem Ausschleichschema sinnvoll sein (Debast *et al.* 2014).

Eine weitere Therapieoption bei mehrfach rezidivierender CDI ist das Einbringen von Spenderfäzes in den Darm des Patienten mittels Kapseln, Einlauf, Koloskopie oder Dünndarm-Sonde (Bauer *et al.* 2009). Hierbei sollen sich die fremden Bakterien im Darm der Patienten ansiedeln und die in ihrer Zusammensetzung gestörten Darmmikrobiota wieder aufbauen. Eine randomisierte Studie zur Prüfung dieser Methode bei wiederkehrender CDI zeigte äußerst vielversprechende Ergebnisse (van Nood *et al.* 2013).

Eine Reihe weiterer bisher noch nicht als klinische Standards etablierter Therapieansätze sind Gegenstand aktueller Forschung. Dazu gehören z.B. die intravenöse Gabe von Immunglobulinen und die Therapie mit monoklonalen Antikörpern gegen die von *C. diff.* produzierten Toxine (Surawicz *et al.* 2013).

1.1.9 CDI bei Patienten mit hohem Risiko für nosokomiale Infektionen

Bei Patienten mit wiederholten, langen Krankenhausaufenthalten, schwerer Grunderkrankung und Immunsuppression, die zusätzlich Antibiotika erhalten, findet sich eine Vielzahl der bekannten Risikofaktoren für eine CDI. Dazu zählen insbesondere Patienten, die aufgrund einer schweren hämato-onkologischen Erkrankung stationär behandelt werden.

In dieser Arbeit soll das Auftreten von CDI bei Patienten nach allogener hämatopoetischer Stammzelltransplantation und bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie, die eine Chemotherapie erhalten, untersucht werden.

Zum besseren Verständnis sollen im Folgenden beide Patientengruppen charakterisiert und wichtige Zusammenhänge in Therapie und möglichen Komplikationen aufgezeigt werden.

1.2 Akute myeloische Leukämie

1.2.1 Erkrankung und Therapie

Akute Leukämien sind maligne Erkrankungen ausgehend von frühen Vorläuferzellen der Blutbildung. Zugrunde liegen somatische Mutationen in den hämatopoetischen oder lymphatischen Zellen, die zu einer Fehlregulation in der Differenzierung und Proliferation der Zellen führen. Ein unkontrolliertes Wachstum dieser „leukämischen“ Zell-Populationen hat eine Verdrängung der Blutbildung im Knochenmark zur Folge. Je nach Herkunft der Zellen aus der lymphoblastischen oder myeloblastischen Zellreihe wird zwischen akuter lymphatischer (ALL) und akuter myeloischer Leukämie (AML) unterschieden (Müller-Hermelink *et al.* 2009).

Die AML macht etwa 80% der akuten Leukämien im Erwachsenenalter aus. Die Inzidenz steigt mit zunehmendem Alter von < 5 pro 100.000 bei den unter 60-Jährigen auf ca. 15 pro 100.000 bei den 70-jährigen. Das durchschnittliche Erkrankungsalter beträgt 63 Jahre (Schaich *et al.* 2012).

Da es sich bei der AML um eine rasch fortschreitende, lebensbedrohliche Erkrankung handelt, sollte nach Diagnosestellung und Evaluation der individuellen Risiko- und Prognosefaktoren schnellstmöglich eine Therapie eingeleitet werden (Schaich *et al.* 2012) Die Therapie besteht in der Regel aus zwei Phasen, alle Patienten sollten im Rahmen von klinischen Studien zur Therapieoptimierung in spezialisierten Zentren behandelt werden. Die erste Phase, die Induktion, hat das Ziel, durch intensive Chemotherapie die Masse der maligne entarteten Zellen drastisch zu reduzieren. Das Erreichen einer kompletten Remission (complete remission, CR) mit weniger als fünf Prozent leukämischen Blasten im Knochenmark und Normalisierung des peripheren Blutbildes ist das Ziel der Induktionstherapie. Neben der Zerstörung der maligne entarteten Zellen kommt es durch die intensive Chemotherapie auch zu einer Schädigung des gesunden Teils des blutbildenden Systems. Bis zur Regeneration der Hämatopoese und zum Erreichen der CR dauert es meist drei bis sechs Wochen (Buske *et al.* 2009).

Nach der Induktion folgt die zweite Phase, die Konsolidierung, mit dem Ziel, verbliebene maligne Zellen zu beseitigen und den Patienten zu heilen. Je nach Risikogruppe und Alter des Patienten besteht die Konsolidierung aus einer erneuten intensiven Chemotherapie oder einer hämatopoetischen Stammzelltransplantation (s.u.). Die allogene Stammzelltransplantation (allo SZT) von einem – möglichst immungenetisch passenden – verwandten oder fremden Spender hat ein hohes antileukämisches Potential und stellt deshalb die Standard-Therapie bei Patienten mit erhöhtem Risiko für ein Rezidiv dar (Schaich *et al.* 2012).

Eine sogenannte prolongierte, zyklische Erhaltungstherapie mit weniger intensiven Chemotherapie-Schemata über ein bis drei Jahre wird als Alternative bei Patienten mit besonderer Risikogruppe oder Nicht-Zumutbarkeit einer Konsolidierung durchgeführt (Schaich *et al.* 2012, Buske *et al.* 2009).

1.2.2 Infektionen als Komplikation bei Patienten mit AML während und nach Chemotherapie

Patienten, die aufgrund einer AML mit einer Hochdosis-Chemotherapie behandelt werden, haben ein besonders hohes Risiko für Infektionen.

Die Schädigung des blutbildenden Systems und die damit einhergehende Funktionsstörung des Immunsystems durch die Chemotherapie spielt vor allem nach der Induktionstherapie eine wichtige Rolle. Eine schwere Neutropenie, also ein Absinken der neutrophilen Granulozyten auf Werte < 500 pro Mikroliter Blut, wird verursacht durch die intensive zytostatische Therapie und zum Teil auch durch die Blutbildung beeinträchtigende Faktoren der zugrunde liegenden Erkrankung. Sie gilt in der Situation während und nach einer Chemotherapie als wichtigster Risikofaktor für das Auftreten von schweren Infektionen. Entscheidend ist nicht nur die Schwere, sondern auch die Dauer der Neutropenie (Ruhnke 2012, Vento *et al.* 2003). Verschiedene weitere Faktoren wie Alter, Organfunktionseinschränkungen, Kolonisierung mit pathogenen Keimen und vorrausgegangene Therapien beeinflussen das individuelle Risiko für eine Infektionskrankheit (Ruhnke 2012).

Als Erreger spielen in diesem Zusammenhang vor allem Bakterien und Pilze eine Rolle, im Prinzip kann aber jeder pathogene Erreger eine schwere Infektion verursachen. Besonders bakterielle Erreger stammen zumeist aus der endogenen Flora des Patienten. Reservoirs sind die Haut, der Gastrointestinaltrakt und die (oberen) Luftwege. Unter der zytostatischen Therapie kommt es neben der Immunsuppression auch zu einer Störung

der physiologischen Barrieren u.a. im Bereich der Haut und der Schleimhäute. Hierdurch sind Bedingungen für das Eindringen und die Ausbreitung der Erreger bis zur manifesten Infektion gegeben. Auch invasive therapeutische Maßnahmen wie zentrale Katheter begünstigen die Entstehung von Infektionen (Kruger *et al.* 2005). Zu den häufiger nachgewiesenen Gram-negativen Bakterien zählen *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. und *Pseudomonas aeruginosa*, zu den Gram-positiven zählen *Staphylococcus aureus*, Koagulase-negative Staphylokokken, *Enterococcus* spp. und Streptokokken der Viridans-Gruppe. Häufige Erreger invasiver Mykosen sind *Candida* spp., *Aspergillus* spp. und *Pneumocystis jirovecii* (Vento *et al.* 2003).

Aufgrund des hohen Infektionsrisikos, insbesondere in der Phase der Neutropenie, wird hier in der Regel eine prophylaktische Therapie empfohlen. Die antimykotische Prophylaxe erfolgt i.d.R. mit einem Azol-Derivat und die antibiotische Prophylaxe häufig mit einem Flourchinolon (Dohner *et al.* 2010).

Besteht ein Hinweis auf eine Infektion, ist eine frühzeitige, gegebenenfalls empirische Therapie notwendig. So kommen z.B. bei Fieber in der Neutropenie (s.u.) frühzeitig Breitspektrum-Antibiotika zum Einsatz (Averbuch *et al.* 2014, Vento *et al.* 2003).

1.2.3 CDI bei AML-Patienten

Zum Auftreten von CDI bei hospitalisierten Patienten, die aufgrund einer AML mit einer intensiven Chemotherapie behandelt werden, sowie zu den zugrunde liegenden Risikofaktoren, liegen bislang wenig Daten vor: Schalk *et al.* fanden in ihrer Untersuchung von Patienten mit Ara-C-basierter Therapie eine CDI-Inzidenz von 9% pro Chemotherapie-Zyklus. Bei Auftreten von Diarrhoe im Zusammenhang mit einer Chemotherapie ergab die Stuhluntersuchung in 28% der Fälle einen positiven Befund für *C.diff.* Toxin. Als in diesem Patientenkollektiv relevante Risikofaktoren für das Auftreten von CDI wurden eine antibiotische Therapie mit Ceftazidim sowie eine längere Dauer der Neutropenie ermittelt (Schalk *et al.* 2010). In einem Kollektiv von Patienten mit myelosuppressiver Chemotherapie, von denen die Mehrheit (ca. 70%) eine AML als Grunderkrankung aufwies, fanden Groschlüter *et al.* eine CDI-Inzidenz von 7% pro Episode von Chemotherapie-induzierter Neutropenie (Gorschluter *et al.* 2001). In einer weiteren Untersuchung von Patienten mit akuter Leukämie und Chemotherapie-induzierter Neutropenie ermittelten die Autoren eine CDI-Inzidenz von 5% der Patienten (Gorschluter *et al.* 2002).

1.3 Allogene Stammzelltransplantation

1.3.1 Transplantation von hämatopoetischen Stammzellen

Die Transplantation von hämatopoetischen Stammzellen aus Knochenmark oder Blut (hämatopoetische Stammzelltransplantation, HSZT) hat sich im Laufe der letzten Jahrzehnte vom experimentellen Stadium zur anerkannten Behandlung schwerer Erkrankungen der Blutbildung und des Immunsystems entwickelt. Das Prinzip ist die Übertragung von undifferenzierten, hämatopoetischen Stammzellen von einem gesunden Spender auf einen erkrankten Empfänger (Scheffold *et al.* 2009). Dabei unterscheidet man zwischen allogener, autologer und syngener Transplantation. Bei der allogenen Transplantation werden die Stammzellen von einem immungenetisch fremden Spender übertragen. Bei der autologen Transplantation werden eigene zuvor gewonnene Stammzellen nach einer intensiven Chemo- oder Strahlentherapie reinfundiert. Unter syngener Transplantation versteht man die Übertragung von Stammzellen eines eineiigen (also immungenetisch gleichen) Zwillingsgeschwisters.

Die Stammzellen können gewonnen werden durch

- a) Entnahme von Knochenmark aus dem Beckenkamm oder dem Sternum des Spenders (Knochenmarktransplantation). Dieses Vorgehen ist allerdings nicht mehr üblich.
- b) Entnahme von Nabelschnurblut („cord blood“, CB) aus dem plazentaren Rest-Blutvolumen der abgetrennten Umbilikalvene nach der Geburt
- c) Gewinnung von Stammzellen aus dem peripheren Blut (peripheral blood stem cell transplantation, PBSCT) des Spenders. Hierzu wird zunächst durch die Wachstumsfaktoren „granulocyte colony-stimulating factor“ oder „granulocyte-macrophage colony-stimulating factor“ ein Auswandern von Stammzellen aus dem Knochenmark ins periphere Blut stimuliert. Diese Stammzellen können dann durch präparative Blutzellseparation (Leukapharese) aus dem Blut gewonnen werden (Scheffold *et al.* 2009).

Weltweit wurden im Jahr 2006 über 50.000 (Erst-)Transplantationen durchgeführt, davon ca. 40% allogene HSZT (Gratwohl *et al.* 2010). Die Anzahl der Transplantationen steigt von Jahr zu Jahr, allein von 2005 bis 2010 in Europa um etwa 20%. Die allo SZT wird heute in Deutschland fast ausschließlich als PBSCT durchgeführt. Die Indikation zu einer Therapie mit allo SZT wird am häufigsten bei Leukämien (AML 31%, MDS/MPS 16%, ALL 15%, CML 3%) und bei lymphoproliferativen Erkrankungen (NHL 9%, HD 3%,

Plasmazell-Erkrankungen 5%) gestellt, seltener bei nicht-malignen Erkrankungen des blutbildenden Systems oder des Immunsystems sowie bei soliden Tumoren (Passweg *et al.* 2012).

1.3.2 Spender

Es gibt verschiedene Kriterien, die ein Spender erfüllen sollte. Besonders wichtig ist die Histokompatibilität, bedingt durch die Übereinstimmung zwischen Empfänger und Spender (Donor) in den humanen Leukozyten Antigenen (HLA). Dabei handelt sich um wichtige funktionelle Komponenten des Immunsystems, die als Gruppe im major histocompatibility complex (MHC) auf dem kurzen Arm von Chromosom 6 codiert werden (Scheffold *et al.* 2009). Die für die Spenderwahl relevanten Antigene sind HLA-A, -B, -C und HLA-DRB1, -DQB1 (Mickelson *et al.* 2002). Unterschiede in den HLA-Merkmalen sind eine wichtige Ursache für das Auftreten einer Graft-versus-Host-Reaktion (GvHD), deshalb sollte hier ein möglichst hoher Grad an Übereinstimmung erreicht werden. Die Spender werden nach der Kompatibilität in diesen Merkmalen eingeteilt. HLA-kompatible Spender, im besten Fall HLA-identische Familienspender mit einer Übereinstimmung in 10 von 10 bzw. 9 von 10 Loci der oben genannten HLA-Gene (match related donor, MRD). Bei Geschwistern des Patienten besteht nur eine jeweils 25%ige Wahrscheinlichkeit bzgl. einer 10 von 10 Übereinstimmung. Als Alternative kommt ein nicht-verwandter Fremdspender in Frage, dessen HLA-Typ weitestgehend (9/10 oder weniger beim mismatch unrelated donor, MisMUD) oder ganz (10/10 beim match unrelated donor, MUD) zu dem des Empfängers passt (Scheffold *et al.* 2009). HSZT von einem HLA-kompatiblen verwandten Spender haben in der Regel deutlich höhere Aussicht auf Erfolg als mit nicht-verwandten Fremdspendern.

Weitere Kriterien zur Bestimmung eines geeigneten Spenders sind das Geschlecht, das Alter, der CMV-Serostatus, AB-0- und Rhesus-D-Blutgruppenmerkmale, sowie Komorbiditäten und Risikofaktoren des Spenders (Appelbaum 2010, Scheffold *et al.* 2009).

1.3.3 Konditionierung

Als Vorbereitung auf die SZT wird zunächst eine Konditionierung in Form von Chemo- oder Radiochemotherapie durchgeführt. Ziel dieser Konditionierung ist einerseits eine maximale Reduktion der maligne entarteten Zellen, andererseits eine

Immunsuppression, welche eine Abstoßung des Transplantats durch die Zellen des Empfängers verhindert und ein Anwachsen des Transplantats („engraftment“) möglich macht (Scheffold *et al.* 2009). Heute gibt es zwei verschiedene Konzepte zur „Vorbereitung“ des Empfängers auf die SZT:

Eine „myeloablative Konditionierung“ (myeloablative conditioning, MAC) besteht aus einer intensiven Zytostatikatherapie und einer Ganzkörperbestrahlung (Total Body Irradiation, TBI) in hoher Dosis oder einer kombinierten Zytostatikatherapie. Es gibt zahlreiche Regime, die je nach Erkrankung, Komorbidität und Alter des Patienten gezielt eingesetzt werden. Ziel der myeloablativen Therapie ist zum einen eine möglichst vollständige Eradikation der maligne entarteten Zellen (bei Leukämien im Knochenmark). Durch eine Suppression des Immunsystems wird eine Abstoßung des Transplantats durch Zellen des Empfängers verhindert. Nach der weitgehenden Zerstörung des blutbildenden Systems können sich die transplantierten Stammzellen in den blutbildenden Organen ansiedeln und anwachsen (Scheffold *et al.* 2009, Gratwohl 2008). Eine Konditionierung nach einem myeloablativen Regime kommt nur für eine begrenzte Zahl von Patienten in Frage, meist jüngere Patienten ohne schwere Begleiterkrankungen, da diese mit einer hohen Zahl von Risiken und Nebenwirkungen verbunden ist (Feinstein *et al.* 2001).

Durch Untersuchungen der letzten Jahre haben sich Konditionierungskonzepte mit reduzierter Toxizität, sogenannte nicht-myeloablative Regime (reduced-intensity conditioning, RIC) etablieren können. Diese weniger intensiven Kombinationen von Zytostatika mit oder ohne Radiatio erweitern den Kreis der möglichen Empfänger auf Patienten, die zuvor aufgrund höheren Alters, Schwere der Erkrankung, Komorbidität nicht für eine herkömmliche MAC in Frage kamen (Gratwohl 2008, Lekakis *et al.* 2008). Das Prinzip der RIC baut mehr auf einer Immunsuppression und dem nach dem Anwachsen des Transplantats einsetzenden Graft-versus-Leukemia-Effekt (GvL-Effekt, s.u.) als auf einem aggressiven zytostatischen Effekt auf (Scheffold *et al.* 2009, Gratwohl 2008). Nach RIC treten zwar weniger Schäden durch toxische Effekte der Zytostatika auf, allerdings kommt es aufgrund der inkompletten Zerstörung der malignen Zellen häufiger zum Wiederauftreten der Grunderkrankung (Aoudjhane *et al.* 2005). Ein Vorteil im rezidivfreien und Gesamtüberleben nach Konditionierung mittels RIC im Vergleich zur MAC konnte bislang nicht gezeigt werden (Bornhauser *et al.* 2012, Gupta *et al.* 2012).

Da es zwischen den verschiedenen Konditionierungsregimen große Unterschiede gibt, muss für jeden Patienten je nach zugrunde liegender Erkrankung, Risikogruppe, Alter, Komorbidität und Ansprechen auf vorherige Therapien das optimale Konditionierungs-Schema individuell ausgewählt werden (Gratwohl 2008).

1.3.4 Graft-versus-Leukemia / Graft-versus-Tumor-Effekt

Bei der allo SZT macht man sich einen Nebeneffekt des Einbringens von fremden Zellen in einen Organismus therapeutisch zunutze: Die immunkompetenten Zellen des Spenders sind zum Teil in der Lage, die maligne entarteten Zellen des Empfängers durch Zell-vermittelte Mechanismen anzugreifen und zu beseitigen. Dieser Effekt wird als Graft-versus-Leukemia-Effekt oder Graft-versus-Tumor-Effekt (GvL-/GvT-Effekt) bezeichnet. Neben der zytostatischen Therapie bildet er ein wichtiges Therapieprinzip im Rahmen der allo SZT und stellt den wichtigsten Vorteil gegenüber der autologen Transplantation dar (Appelbaum 2001). Wird vor der SZT eine dosisreduzierte Konditionierung durchgeführt, kommt dem GvL-/GvT-Effekt eine besondere Bedeutung zu, da er in dieser Situation den entscheidenden Mechanismus zur vollständigen Beseitigung der malignen Zellen darstellt. Um den GvL-Effekt zu verstärken, können gezielt Spender-Lymphozyten transfundiert werden. Die für den GvL-Effekt verantwortlichen Mechanismen sind Gegenstand immunologischer Forschung und bisher noch nicht abschließend geklärt. Vor allem T-Zellen und natürliche Killerzellen scheinen hier eine wichtige Rolle zu spielen (Kolb 2008, Ruggeri *et al.* 1999).

1.3.5 Immunsuppression und Rekonstitution des Immunsystems nach allogener SZT

Durch Faktoren der Grunderkrankung und durch die Konditionierung kann es schon vor der Stammzelltransplantation zu einer schweren Immunsuppression kommen, infolge derer Infektionen auftreten können. Nach der Transplantation befindet sich der Patient für die Zeit, in der das eigene blutbildende System bereits zerstört und das des Spenders noch nicht funktionsfähig ist, in einem Zustand schwerer Knochenmarksdepression. Die Dauer der sogenannten Aplasie variiert bei einer allo SZT je nach Grunderkrankung, Konditionierung und eingesetzten Immunsuppressiva. Sie ist mit einem besonders hohen Risiko für Infektionen behaftet, was umfassende Maßnahmen der Infektionsprophylaxe und -therapie erforderlich macht (Scheffold *et al.* 2009). Eine vollständige Erholung des Immunsystems, wenn diese überhaupt erreicht wird, dauert oft Jahre, die Patienten bleiben lange Zeit anfällig für Infektionen (Williams *et al.* 2008,

Kruger *et al.* 2005). In der Phase der Aplasie müssen außerdem Erythrozyten und Thrombozyten durch Transfusionen ersetzt werden, um schwere Komplikationen zu verhindern. Nachdem sich die Stammzellen des Spenders im Knochenmark angesiedelt haben, zeigt sich das Anwachsen („take“) durch den Anstieg der Granulozyten, Thrombozyten und Retikulozyten im peripheren Blut (Appelbaum 2010, Rank *et al.* 2007).

1.3.6 Komplikationen nach allo SZT

Zu den frühen Komplikationen binnen Tagen bis Wochen nach der Transplantation gehören toxische Effekte der Konditionierung, Transplantatversagen, akute Graft-versus-Host-Disease (s.u.) sowie Infektionen durch Bakterien, Viren und Pilze. Im weiteren Verlauf (nach Monaten) können neben der chronischen GvHD weiterhin Infektionen auftreten. Weitere Komplikationen sind ein Rezidiv der Grunderkrankung sowie Spätschäden (nach Jahren) als Folgen der Konditionierung, der Transplantation und der verabreichten Pharmaka (Scheffold *et al.* 2009, Rank *et al.* 2007).

Gegenstand dieser Arbeit ist das Krankheitsbild der *Clostridium-difficile*-Infektion bei Patienten nach allo SZT. Für das bessere Verständnis der Ursachen, der Manifestation und der Folgen dieser Erkrankung sollen im Folgenden zwei Gruppen von Komplikationen nach allo SZT genauer dargestellt werden.

1.3.7 Die Graft-versus-Host-Krankheit

Dient die Reaktion der alloreaktiven Zellen des Spenders gegen die entarteten Zellen des Empfängers im Rahmen des GvL- bzw. GvT-Effekts der Bekämpfung der Krankheit, so reagieren diese alloreaktiven Zellen z.T. auch gegen das Gewebe des Empfängers. Der als Graft-versus-Host-Disease (GvHD) bekannte Effekt ist die typische Nebenwirkung der allo SZT und assoziiert mit einer erheblichen Morbidität und Mortalität (Devergie 2008). Die klassische Einteilung der GvHD unterscheidet zwischen akuter GvHD (aGvHD) mit Auftreten von Symptomen innerhalb der ersten 100 Tage nach der Transplantation und chronischer GvHD (cGvHD) mit Symptomen nach Ablauf von 100 Tagen. Diese Einteilung wird heute im klinischen Alltag zwar noch angewendet, allerdings sollte sich die Diagnose laut neueren Empfehlungen nach den jeweils typischen klinischen Symptomen richten und weniger nach dem Zeitpunkt des Auftretens (Filipovich *et al.* 2005).

Akute GvHD (aGvHD):

Die Entwicklung einer manifesten aGvHD erfolgt nach immunologischen Vorstellungen in drei hier vereinfacht dargestellten Phasen:

- 1) Die Konditionierung, Vorthérapien sowie Faktoren der Erkrankung führen zu Gewebeschäden, die eine erhebliche Freisetzung von inflammatorischen Mediatoren wie z.B. TNF- α und IL-1 und damit die Aktivierung von antigen-präsentierenden Zellen (APC) des Empfängers zur Folge haben.
- 2) Naive T-Zellen des Spenders werden aktiviert und führen über Interaktion mit APC und Freisetzung eigener Zytokine zu einer deutlichen Vermehrung von Spender T-Zellen.
- 3) Durch komplexe Interaktionen zwischen Zellen des angeborenen - (Granulozyten, Makrophagen, natürliche Killerzellen) und des adaptiven Immunsystems (hier vor allem zytotoxische T-Zellen) kommt es zu einer Entzündungsreaktion und schließlich zu Organschäden (Devergie 2008).

An der Haut manifestiert sich die aGvHD häufig als makulo-papulöses Exanthem, welches zuerst an den Hand- und Fußflächen auftritt, sich auf den gesamten Körper ausweiten kann und häufig mit Pruritus und Schmerzen einhergeht. Eine Leber-Beteiligung in Form einer cholestatischen Hepatopathie zeigt sich vor allem durch einen Anstieg des Bilirubins im Serum, in schwereren Fällen auch durch einen Ikterus. Häufig kommt es im Rahmen einer aGvHD zu Beteiligung des Gastrointestinaltraktes mit Übelkeit, Bauchschmerzen und wässriger Diarrhoe. In schweren Fällen kann es zu schwersten, blutigen Durchfällen und massiven enteralen Wasserverlusten kommen.

Die Ausprägung der Symptome wird in jedem der drei Organsysteme (Haut, Leber und Gastrointestinaltrakt) in Schweregrade eins bis vier eingeteilt, daraus ergibt sich dann eine Gesamteinschätzung der Schwere der aGvHD. Weitere Symptome, die nicht in die Ermittlung des Schweregrades einbezogen werden, sind Fieber, Gewichtsverlust, allgemeine körperliche Schwäche und Schäden an Schleimhäuten, lymphatischen, endokrinen und anderen Organen (Devergie 2008).

Da die aGvHD die häufigste Ursache früher Transplantations-assoziiertes Mortalität darstellt, ist die Prävention und Therapie der aGvHD ein ausgesprochen wichtiger Teil der Behandlung von Empfängern einer allo SZT. Um das Auftreten einer aGvHD weniger wahrscheinlich zu machen, sollte ein möglichst passender Spender mit identischem

HLA-Typ gefunden werden (s.o.), der Empfänger nach der Transplantation eine pharmakologische Immunsuppression erhalten und ggf. die Funktion der Spender-T-Zellen anderweitig gehemmt werden.

Die Intensität und Dauer der immunsuppressiven Therapie richtet sich nach dem Risiko für die Entwicklung einer aGvHD. Dabei benötigen z.B. Empfänger eines HLA-identischen MRD nach MAC eine weniger starke Immunsuppression als Empfänger eines MUD oder MisMUD, mit RIC therapierte Patienten oder solche mit bestehenden Komorbiditäten. Häufig verwendete Wirkstoffe sind Kortikosteroide, Cyclosporin, Methotrexat, Mycophenolat mofetil, Tacrolimus und Sirolimus. Durch die gegen T-Zell-Strukturen gerichteten Antikörper Alemtuzumab und Anti-Thymozyten-Globulin kann eine gezielte Hemmung der T-Zell-Funktion *in vivo* erreicht werden. Bei der immunsuppressiven Therapie sollte immer eine Abwägung stattfinden zwischen der Prävention der aGvHD auf der einen und einem abgeschwächten GvL-Effekt sowie den Komplikationen einer schweren Immunsuppression auf der anderen Seite. Dazu zählen ein Rezidiv der behandelten Erkrankung und schwere opportunistische Infektionen (Theurich *et al.* 2012, Kanda *et al.* 2011, Devergie 2008).

First-line-Medikamente in der Therapie der aGvHD sind Methylprednisolon und die Calcineurininhibitoren Cyclosporin und Tacrolimus, ca. ein Drittel der Patienten spricht binnen zwei Wochen auf diese Therapie an. Bei Therapieversagen werden Immunsuppressiva, Antikörper gegen T-Zellen und Entzündungsmediatoren, extrakorporale Photopherese (Hemmung der alloreaktiven T-Zellen) sowie weitere Verfahren mit immunsuppressivem Effekt eingesetzt (Martin *et al.* 2012). Bislang konnte noch keine Therapieform eine eindeutige Überlegenheit im Langzeitüberleben vorweisen. Vor allem aufgrund von Infektionskomplikationen und weiteren Schüben einer aGvHD ist die Prognose bei Nicht-Ansprechen auf die initiale Therapie schlecht (Westin *et al.* 2011, Devergie 2008).

Neben der Pharmakotherapie sind supportive Maßnahmen wie parenterale Ernährung, Substitution von Flüssigkeitsverlusten und eine effektive Schmerztherapie von großer Bedeutung. Die prophylaktische Gabe von Antiinfektiva ist bei Auftreten einer aGvHD wichtig, da es häufig in der Folge zu lebensbedrohlichen Infektionen durch Viren, Bakterien oder Pilzen kommt (Poutsiaka *et al.* 2011, Devergie 2008).

Chronische GvHD (cGvHD):

Eine cGvHD tritt in etwa 50% der Fälle nach allo SZT mit myeloblativer oder dosisreduzierter Konditionierung auf (Baron *et al.* 2012, Gupta *et al.* 2012, Wojnar *et al.*

2006). Die klinischen Manifestationsformen der cGvHD sind sehr vielgestaltig und haben in ihren Ausprägungen Ähnlichkeit mit Autoimmunerkrankungen wie z.B. Kollagenosen. Betroffene Organsysteme sind vor allem Haut, Schleimhäute, Weichteile, Augen und Mund, Leber und Lunge (Filipovich *et al.* 2005, Ratanatharathorn *et al.* 2001). Da im Zusammenhang mit der Fragestellung die aGvHD die weitaus wichtigere Rolle spielt, wird hier auf eine weitere, ausführliche Beschreibung der cGvHD verzichtet.

Zahlreiche transplantationsassoziierte Risikofaktoren sind mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit für das Auftreten einer aGvHD assoziiert. Dazu gehören das Transplantat eines Fremdspenders, die HLA-Disparität, das Geschlechts-Mismatch, das höhere Alter des Empfängers, die myeloablative Konditionierungstherapie und die PBSCT (im Vergleich zu CB als Stammzellquelle). Bei der cGvHD ist eine vorausgegangene aGvHD ein wichtiger Risikofaktor (Flowers *et al.* 2011, Devergie 2008, Wojnar *et al.* 2006).

1.3.8 Infektionen als Komplikation im Rahmen der allo SZT

Eine Infektion ist die häufigste Komplikation und eine wichtige Ursache für Morbidität und Mortalität bei Patienten nach allo SZT. Im Vergleich zu konventionellen Konzepten onkologischer Therapie und der autologen SZT ist das Erregerspektrum vielfältiger und es kommt häufiger zu schwer verlaufenden, z.T. letalen Infektionen (Scheffold *et al.* 2009, Kruger *et al.* 2005). Der Zeitraum zwischen Transplantation und Anwachsen des Transplantats ist durch die auftretende Panzytopenie, vor allem durch die Neutropenie, mit einem besonders hohen Risiko für Infektionen verbunden (Dettenkofer *et al.* 2003). Die in Folge der Toxizität der Konditionierung auftretenden Schleimhautschäden sind ideale Eintrittspforten für Erreger (Kruger *et al.* 2005). In der frühen Phase nach der Transplantation treten von allem Infektionen mit Gram-negativen und Gram-positiven Bakterien, dem *Herpes-simplex-Virus* und etwas später auch Pilzen wie *Aspergillus* und *Candida spp.* auf.

In der Phase nach dem Anwachsen ab Tag 30 stehen opportunistischen Infektionen mit Herpesviren (v.a. das *Cytomegalievirus*) und spezielle Pilzinfektionen (*Pneumocystis jiorvecii*) als häufige Erreger von Pneumonien im Vordergrund. In der späten Phase ab Tag 100 nach Transplantation hat sich das Immunsystem schon teilweise erholt, das Infektions-Risiko nimmt insgesamt etwas ab. Typische Erreger in dieser Phase sind bekapselte Bakterien und das *Varizella-Zoster-Virus* (Appelbaum 2010, Kruger *et al.* 2005).

Als klinische Krankheitsbilder bei Infektionen nach allo SZT spielen vor allem die Sepsis, die Pneumonie, die infektiöse Gastroenteritis und die Harnwegsinfektion eine Rolle. Zur Verhinderung häufig auftretender oder regelhaft schwer verlaufender Infektionen mit pathogenen Erregern wie *Herpesviren*, *Pneumocystis jirovecii*, Hefepilzen und Bakterien, die häufig als Erreger von schweren Infektionen vorkommen, wird nach individueller Risikoeinschätzung häufig eine Primärprophylaxe mit gegen die entsprechenden Erreger wirksamen Antiinfektiva durchgeführt (Sandherr *et al.* 2015, Tacke *et al.* 2014, Neumann *et al.* 2013).

Aus prophylaktischen und therapeutischen Gründen erhalten allo SZT-Patienten insgesamt besonders häufig Breitspektrum-Antibiotika. Oft werden dabei mehrere Wirkstoffe kombiniert. Dieser Umstand hat eine besondere Bedeutung im Zusammenhang mit dem Auftreten von CDI.

1.3.9 CDI nach allogener Stammzelltransplantation

Bei einem Großteil der Empfänger einer allo SZT treten in der Folge früher oder später Durchfälle auf. Dies betrifft vor allem die frühe Phase nach der SZT einschließlich der Neutropenie (Leung *et al.* 2010, Aksoy *et al.* 2007). Es kommen eine Reihe von Ursachen für die Entstehung der Diarrhoe in Frage, die klinisch zunächst schwer zu unterscheiden sind, und zwar die toxische Wirkung der Konditionierung, Infektionen, aGvHD und Medikamentennebenwirkungen.

Können auch häufig in der mikrobiologischen Untersuchung keine Bakterien, Viren oder Pilze als Ursache gefunden werden, so ist doch stets eine umfassende Abklärung einer infektiösen Genese der Diarrhoe geboten, um ggf. eine gezielte Therapie einzuleiten und schwere Komplikationen verhindern zu können (Vehreschild *et al.* 2013, van Kraaij *et al.* 2000). Unter den Erregern, die als ursächliche Pathogene in diesem Kontext eine Rolle spielen, ist *C. difficile* - als klassischer Erreger der nosokomialen Diarrhoe - einer der häufigsten Vertreter (Dettenkofer *et al.* 2003).

Bei Empfängern einer allo SZT finden sich häufig Risikofaktoren für eine CDI. In dem komplexen klinischen Setting, in dem verschiedene Einflüsse wie Chemotherapie, Immunsuppressiva und Antiinfektiva gleichzeitig oder überlappend wirken, ist es nicht einfach, die vorherrschende Ursache für die Manifestation der Erkrankung zu ermitteln. Im Rahmen der allo SZT kommt es regelhaft zu einer Veränderung in der Zusammensetzung des Darmmikrobiota (umgangssprachlich „Darmflora“) mit einem Verlust an Diversität von kommensalen Bakterienstämmen. Der Einsatz von Antibiotika

scheint dabei eine maßgebliche Rolle zu spielen. Nicht zuletzt ist dieser Verlust an Diversität bzw. die Dominanz einzelner Bakteriengruppen mit einem erhöhten Risiko für invasive Infektionen und einer erhöhten Mortalität assoziiert (Taur *et al.* 2014, Taur *et al.* 2012).

In drei Studien, die das Auftreten von CDI in größeren Kollektiven von allo SZT-Patienten untersuchten, wurden als unabhängige Risikofaktoren eine vorrausgegangene Chemotherapie vor der Konditionierung, die Gabe von Breitspektrum-Antibiotika, eine aGvHD, eine SZT aus Nabelschnurblut, eine Bestrahlung mit höherer Intensität (TBI \geq 12 Gray), ein Alter über 60 Jahre und eine Darm-Kolonisation mit Vancomycin-resistenten-Enterokokken ermittelt (Alonso *et al.* 2012, Trifilio *et al.* 2012, Willems *et al.* 2012).

Die Angaben zur Häufigkeit von CDI nach allo SZT in der Literatur sind recht verschieden. So wurde in zwei Studien mit kleineren Patienten-Kollektiven bei 4% bzw. bei 30% der Patienten mit Diarrhoen nach allo SZT *C. diff.* als die Diarrhoe verursachender Erreger ermittelt (Leung *et al.* 2010, van Kraaij *et al.* 2000). Drei größere Studien fanden Inzidenzen von 13% bis 15% pro Patient (Alonso *et al.* 2012, Trifilio *et al.* 2012, Willems *et al.* 2012).

Ein potentieller Zusammenhang zwischen CDI und GvHD wurde bereits in mehreren Studien untersucht. Zwei Studien fanden dabei keine signifikant erhöhte Rate von neu aufgetretener aGvHD nach Auftreten von CDI (Willems *et al.* 2012, Chopra *et al.* 2011). Chakrabarti *et al.* fanden zwar nicht signifikant häufiger eine aGvHD bei Patienten mit vorausgegangener CDI, wohl aber häufiger einer höhergradige aGvHD (Chakrabarti *et al.* 2000). Trifilio *et al.* konnten nachweisen, dass für Patienten mit CDI eine höhere Wahrscheinlichkeit bestand, im Verlauf an einer Grad 2-4 aGvHD zu erkranken (Trifilio *et al.* 2012). Dubberke *et al.* fanden sowohl ein erhöhtes Risiko für eine aGvHD insgesamt als auch für eine höhergradige aGvHD und gastrointestinale aGvHD (Dubberke *et al.* 2010).

1.4 Fragestellung:

In der vorliegenden Arbeit soll das Auftreten von *Clostridium-difficile*-Infektionen in einem Kollektiv von Patienten mit hohem Risiko für nosokomiale Infektionen untersucht werden. Hierzu zählen Patienten, die aufgrund einer hämatologischen Erkrankung mit einer allogenen Stammzelltransplantation therapiert werden und Patienten, die bei akuter myeloischer Leukämie eine intensive zytostatische Therapie erhalten. Bei diesen Patienten liegt ein besonders hohes Risiko für eine CDI vor, da diverse Risikofaktoren wie z.B. eine antibiotische Therapie oder ein Langzeit-Krankenhausaufenthalt hier gehäuft auftreten. Weiterhin zeigt die CDI in den letzten Jahren eine steigende Inzidenz, ein endemisches Auftreten von besonders schweren Infektionen und therapeutische Schwierigkeiten durch rezidivierende Verläufe.

Nicht ausreichend geklärt ist derzeit die Frage, ob die CDI ein insgesamt zunehmendes Problem hinsichtlich Häufigkeit und Schwere bei den immunsupprimierten Patienten darstellt und ob es hierfür entscheidende Einflussfaktoren gibt. Es stellt sich auch die Frage, inwiefern die Erkrankung Einfluss nimmt auf den Gesamtverlauf, mögliche Komplikationen und die Prognose. Etablierte Therapiekonzepte sind in ihrer Wirksamkeit in diesem Patientenkollektiv bisher nur wenig untersucht.

Im Einzelnen soll die vorliegende Arbeit daher folgende Aspekte untersuchen:

- Ermittlung der Inzidenz von CDI bei Patienten nach allogener hämatopoetischer Stammzelltransplantation und im Rahmen der Chemotherapie bei akuter myeloischer Leukämie
- Ermittlung und Analyse von Risikofaktoren für das Auftreten einer CDI
- Untersuchung eines möglichen Zusammenhangs zwischen CDI und dem Auftreten einer akuten Graft-versus-Host-Disease des Gastrointestinaltraktes
- Untersuchung des Therapieerfolges der spezifischen antibiotischen Therapie von CDI

2 Publikation

Biol Blood Marrow Transplant 20 (2014) 823–828

Clostridium Difficile Infection in Patients with Acute Myelogenous Leukemia and in Patients Undergoing Allogeneic Stem Cell Transplantation: Epidemiology and Risk Factor Analysis



Maria J.G.T. Vehreschild^{1,2,*}, David Weitershagen¹,
Lena M. Biehl¹, Daniela Tacke¹, Dirk Waldschmidt³,
Ulrich Töx³, Hilmar Wisplinghoff⁴,
Michael v. Bergwelt-Baildon¹, Oliver A. Cornely^{1,5},
Joerg J. Vehreschild^{1,2}

¹First Department of Internal Medicine, University of Cologne, Cologne, Germany

²German Centre for Infection Research (DZIF), Partner site Bonn-Cologne, Germany

³Department of Gastroenterology and Hepatology at Abdominal Center, University of Cologne, Germany

⁴Institute for Medical Microbiology, Immunology and Hygiene, University Hospital of Cologne, Germany

⁵Clinical Trials Centre Cologne, ZKS Köln (BMBF 01KN1106), University of Cologne, Cologne, Germany; Center for Integrated Oncology CIO KölnBonn, University of Cologne, Cologne, Germany; Cologne Excellence Cluster on Cellular Stress Responses in Aging-Associated Diseases CECAD, University of Cologne, Cologne, Germany

Article history:

Received 4 February 2014

Accepted 24 February 2014

Key Words:

Clostridium difficile infection
Acute myelogenous leukemia
Allogeneic stem cell
transplantation
Carbapenem

A B S T R A C T

Patients receiving treatment for acute myelogenous leukemia (AML) and recipients of allogeneic stem cell transplantation (aSCT) are at high risk of contracting *Clostridium difficile* infection (CDI), the most frequently observed nosocomial diarrhea and enterocolitis. Data were retrieved from the prospective Cologne Cohort of Neutropenic Patients. Patients hospitalized for aSCT as well as patients receiving treatment for AML were included in the analysis. Risk factor analysis for the occurrence of CDI was performed by backward-stepwise logistic regression ($P < .1$). During the period from January 2007 to August 2010, 310 hospitalizations of 152 patients with AML and 229 hospitalizations of 223 patients undergoing aSCT were eligible for analysis. Incidence rates for CDI per 10,000 patient days were 17.9 for AML patients and 27.4 for aSCT recipients. Among AML and aSCT patients, median time from initiation of chemotherapy to CDI was 10 days (range, –8 to 101 days) and 17 days (range, 6 to 79), respectively. Logistic regression identified carbapenem exposure to be associated with development of CDI in AML patients (odds ratio [OR], 2.2) and aSCT recipients (OR, 1.4). In both groups, previous exposure to carbapenems was significantly associated with development of CDI. A follow-up study, assessing the effect of an antibiotic stewardship intervention to decrease the administration of carbapenems in hematological high-risk patients, is warranted.

© 2014 American Society for Blood and Marrow Transplantation.

INTRODUCTION

Clostridium difficile infection (CDI), the most frequently observed type of nosocomial diarrhea, is defined as the presence of gastrointestinal symptoms and microbiological findings indicating the presence of toxin-producing *C. difficile* or colonoscopic findings showing typical signs of pseudomembranous colitis [1,2]. Clinical manifestation is variable, ranging from mild or moderate diarrhea to fulminant, life-threatening pseudomembranous colitis [2].

Earlier studies have identified a variety of risk factors associated with development of CDI. Disruption of enteric flora by antibiotic exposure, especially with cephalosporins and clindamycin, seems to play a key role in manifestation of CDI [3]. Concordantly, patient groups with severe immunosuppression and high antibiotic exposure, eg, patients

receiving chemotherapy for acute myelogenous leukemia (AML) or undergoing allogeneic stem cell transplantation (aSCT), were identified as high-risk populations displaying incidence rates per hospitalization of 4.8% to 9.3% [4,5] and 12.5% to 30% [6–8], respectively.

In view of these considerably elevated rates, it seems reasonable to identify and explore potentially preventive measures. In addition, it has been hypothesized that gastrointestinal graft-versus-host disease (GVHD), a severe complication in aSCT recipients, may be triggered by CDI [7,9–11]. Preventing CDI may, therefore, reduce the incidence of gastrointestinal GVHD, with the potential of reducing severe morbidity and even mortality.

Previous publications have shown that antibiotic stewardship may effectively decrease the rate of CDI [12,13]; however, identification of antimicrobials driving development of CDI in these high-risk populations would have to precede such an intervention. Only a few authors have assessed risk factors for CDI in patients undergoing treatment for AML [4] and recipients of an aSCT [7,8]. These

Financial disclosure: See Acknowledgments on page 828.

* Correspondence and reprint requests: Maria J.G.T. Vehreschild, Hospital of the University of Cologne, Kerpener Straße 62, 50937 Köln, Germany.

E-mail address: maria.vehreschild@ctuc.de (M.J.G.T. Vehreschild).

1083-8791/\$ – see front matter © 2014 American Society for Blood and Marrow Transplantation.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbmt.2014.02.022>

studies have covered the period of 2003 to 2008, when myeloablative conditioning regimens with high doses of total body irradiation (TBI) were still the predominant treatment strategy. Furthermore, only 1 of these studies evaluated different classes of antibiotics as independent risk factors [7]. However, some standard-of-care agents for patients with febrile neutropenia, eg, the carbapenems [14], were not included into this analysis.

Further studies are needed to identify potential targets for an antibiotic stewardship intervention that might decrease the incidence of CDI in hematological high-risk patients. To this end, we performed a prospective cohort study that assessed the epidemiology of and risk factors for CDI at the Department I of Internal Medicine, University Hospital of Cologne, Germany.

DESIGN AND METHODS

Trial Design

For this study, data were retrieved from the prospective Cologne Cohort of Neutropenic Patients, analyzed, and reported in agreement with Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology statement [15]. The Cologne Cohort of Neutropenic Patients is a non-interventional cohort in which data on risk factors, interventions, and outcome of immunocompromised patients at risk of opportunistic infections are collected (NCT01821456). Data from all patients undergoing chemotherapy at the Department I of Internal Medicine at the University Hospital of Cologne, Cologne, Germany, are incorporated into the database.

Data capture included demographic data; gender; weight; height; underlying disease; dates of admission and discharge; type of conditioning treatment; type of transplantation; duration of neutropenia; information on donor mismatch status; cytomegalovirus status of transplant donor and recipient; occurrence and severity of acute GVHD; onset and duration of diarrhea; *C. difficile* toxin test results; administration of antimicrobials, proton pump inhibitors (PPI), and immunosuppressants; use of hematopoietic growth factors; admission to intensive care unit; follow-up duration; and survival.

For documentation, a custom platform based on Microsoft SQL Server 2005 and Microsoft Access 2007 (both by Microsoft Corporation, Redmond, WA) was developed in cooperation with System AG für IT-Lösungen, Lohmar, Germany.

Additional data were obtained from the gastroenterology unit, including macroscopic and histological findings of all colonoscopies and sigmoidoscopies carried out in the documented period to identify all patients in whom an acute GVHD or pseudomembranous colitis was diagnosed.

Setting

All patients were diagnosed and treated in accordance with local hospital care standards, which are defined during regular meetings by specialists in oncology, hematology, transplantation medicine, and infectious diseases. Patients receiving treatment for acute leukemia received antibiotic prophylaxis with trimethoprim and sulfamethoxazole. Fluoroquinolone prophylaxis was provided to transplant recipients with the start of the conditioning regimen. AML patients were treated in a regular ward in single or double rooms. All aSCT recipients were treated in single rooms with high-efficiency particulate absorption filtration on an isolation ward.

Study Patients and Patient Groups

All consecutive patients hospitalized at the Department I of Internal Medicine for an aSCT and patients receiving treatment for AML during the period from January 2007 to August 2010 were included into the analysis. Earlier patients were excluded because of major changes in treatment practice in 2006 (introduction of posaconazole for AML patients and abolishment of sterile care for aSCT recipients). There were no formal exclusion criteria. Because of substantial differences in potential risk factors, patient groups (AML patients and aSCT recipients) were analyzed separately.

Definitions and Endpoints

Diarrhea was defined as 3 or more unformed stools within 24 hours or > 600 mL unformed stool in patients with a rectal stool collector.

A case of CDI was defined according to the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases [1]. The diagnosis of CDI was confirmed when a patient presented with diarrhea and a stool test was positive for toxin-producing *C. difficile*. We required a positive stool toxin assay at most 4 days before or after diarrhea for diagnosis of CDI. The toxin

assay used by the hospitals laboratory at the time of the study was an EIA for toxin A and B (RIDASCREEN, R-Biopharm, Darmstadt, Germany). Only unformed stool samples are tested for *C. difficile* toxin in our microbiology department. Relapse of CDI was defined as new onset of CDI as defined above after at least 7 days without clinical symptoms of CDI.

Neutropenia was defined as an absolute neutrophil count of less than 500 neutrophils/ μ L or, if not available, a white blood cell count of less than 1000 leukocytes/ μ L.

The observational period started with admission and ended upon discharge from hospital or death, whichever occurred first.

Acute GVHD of the gastrointestinal tract was diagnosed by histology obtained during endoscopy (sigmoidoscopy or colonoscopy). If there was no pathologic report available, diagnosis was exclusively based on macroscopic endoscopic evaluation.

Response to CDI treatment was defined as resolution of diarrhea within 10 days of specific antibiotic therapy (metronidazole i.v./per oral [p.o.] and/or vancomycin p.o.). When a combination of both antibiotics was used, beginning of antibiotic treatment was the first day of administration of the first substance used.

Data Analysis and Endpoints

Statistical analyses were carried out using IBM SPSS Statistics software (version 21, IBM Corporation, Armonk, NY). Analysis of frequencies was performed in a descriptive fashion. Risk factor analyses for the occurrence of CDI (AML patients and aSCT recipients) and of acute gastrointestinal GVHD (aSCT recipients only) were performed by backward-stepwise logistic regression analysis. Potential risk factors were eliminated on $P \geq .1$.

Variables were preselected based on a literature search on potential risk factors and confounders. For AML patients, the following variables were included into the analysis: age > 60 years; chemotherapy type; duration of neutropenia; duration of hospitalization; administration of cephalosporins, fluoroquinolones, acylaminopenicillin+ β -lactamase inhibitors, carbapenems, glycopeptides, and aminoglycosides; overall number of antibiotics; and PPI administration [3,4,16]. For the detection of potential risk factors for CDI in aSCT recipients, the following variables were included into the analysis: age > 60 years; underlying condition; conditioning regimen; chemotherapy before aSCT; duration of neutropenia; duration of hospitalization; TBI ≥ 12 Gy; acute gastrointestinal GVHD; administration of fluoroquinolones, acylaminopenicillin+ β -lactamase inhibitors, carbapenems, and glycopeptides; overall number of antibiotics; and PPI administration [3,7,8,11,16]. As opposed to the analysis for the group of patients with AML, this analysis did not include cephalosporins, as they are not part of our standard of care in aSCT patients.

For the detection of potential risk factors for acute gastrointestinal GVHD in aSCT recipients, the following variables were included into the analysis: age > 60, cytomegalovirus donor status, mismatches, TBI ≥ 12 Gy, CDI, and glycopeptide administration [7,9–11,17]. For all logistic regression analyses, only the first hospitalization of each patient was used.

Ethical Statement

This study is a strictly observational epidemiological cohort study. Only data that were collected as part of standard care have been analyzed. All authors were directly involved in patient care at the University Hospital of Cologne. Data were collected and stored on site in accordance with current techniques of privacy assurance. Under these circumstances, according to § 15 subparagraph 1 "Berufsaufsicht für die nordrheinischen Ärztinnen und Ärzte" (code of medical ethics for physicians in the state of Northrhine-Westfalia) [18] and § 6 subparagraph 2 "Gesundheitsdatenschutzgesetz - GDSG NRW" (health privacy law for the state of Northrhine-Westfalia) [19], no formal vote by an ethics committee or informed consent was necessary for this study.

RESULTS

A total of 310 hospitalizations of 153 patients receiving treatment for AML and 235 hospitalizations of 229 patients receiving aSCT were identified. After exclusion of hospitalizations with incomplete files, 310 hospitalizations of 153 patients with AML and 229 hospitalizations of 223 patients undergoing aSCT were eligible for further analysis (Supplementary Figure 1).

C. Difficile Infection in AML Patients

Detailed characteristics during first documented episodes of patients with AML and patients receiving aSCT are shown in Tables 1 and 2, respectively. The majority of

Table 1
Characteristics of Patients Treated for AML

Variables	First Hospitalizations without CDI (n = 142)	First Hospitalizations with CDI (n = 11)
Age, yr		
Mean and SD	55.7 ± 15.0	52.7 ± 11.4
Range	17–80	32–73
Female, n (%)	79 (51.6)	4 (36.4)
BMI		
Mean and SD	26.1 ± 4.6	25.5 ± 5.2
Range	16.0–40.9	17.5–32.9
Chemotherapy, n (%)		
Curative	116 (81.7)	10 (90.9)
Palliative	11 (7.7)	1 (9.1)
None	15 (10.6)	0 (0)
Duration of neutropenia, d		
Mean and SD	27.7 ± 15.8	32.1 ± 7.8
Range	0–89	20–47
Duration of hospitalization, d		
Mean and SD	40.5 ± 22.7	49.9 ± 31.4
Range	1–132	22–139
Intensive care, d		
Mean and SD	2.4 ± 6.6	3.27 ± 6.6
Range	0–53	0–23
Antibiotics received, n (%)		
Aminoglycoside	64 (45.1)	11 (61.1)
Carbapenem	67 (47.2)	10 (90.9)
Cephalosporin	61 (43.0)	8 (72.7)
Fluoroquinolone	44 (31.0)	4 (36.4)
Acylaminopenicillin+β-lactamase inhibitor	90 (63.4)	5 (45.5)
Glycopeptide	54 (38.0)	6 (54.5)
PPI received, n (%)	88 (62.0)	7 (63.6)

BMI indicates body mass index; PPI, proton pump inhibitor; AML, acute myelogenous leukemia.

patients (n = 126; 71.9%) treated for AML received intensive remission-induction chemotherapy during their first documented hospitalizations. The mean duration of neutropenia was 27.7 days (SD, 15.8 days) and the mean duration of stay was 41.2 days (SD, 23.5 days). The combination of an acylaminopenicillin+β-lactamase inhibitor (ie, piperacillin and tazobactam) was the most frequently used class of antibiotics (n = 95; 62.1%), followed by cephalosporins (n = 69; 54.9%), and carbapenems (n = 77; 50.3%).

The occurrence rate of diarrhea was 105 of 310 (33.9%) per hospitalization and 84 of 153 (54.9%) per patient. *C. difficile* infection occurred in 19 of 310 (6.1%) hospitalizations and in 18 of 153 (11.8%) patients; the incidence rate per 10,000 days was 17.9. The detailed distribution of CDI cases over time is depicted in Figure 1. Except for a moderate increase in the number of cases in the fourth quarter of 2009, the incidence rate in the observed populations was stable. No patient developing CDI previously shared the room of another AML patient with CDI. There were 12 AML patients with positive *C. difficile* toxin test not fulfilling clinical criteria of CDI. No patient was infected by a NAP1 strain.

Among these patients, 17 of 19 cases of CDI (89.5%) occurred within 4 weeks of admission. Median time from initiation of chemotherapy to CDI was 10 days (range, –8 to 101 days). Logistic regression identified administration of carbapenems as the most important risk factor for the development of CDI in AML patients. The associated odds ratio (OR) was 2.2. Administration of an acylaminopenicillin+β-lactamase inhibitor was identified as a protective factor with an OR of .8. Details of logistic regression analyses are shown in Table 3.

Table 2A
Characteristics of aSCT Recipients with and without CDI

Recipients of an aSCT		
Variables	First Hospitalizations without CDI (n = 195)	First Hospitalizations with CDI (n = 28)
Age, yr		
Mean and SD	47.4 ± 14.1	45.0 ± 11.1
Range	17–72	21–63
Female	86 (44.1)	7 (25)
BMI		
Mean and SD	24.6 ± 4.2	24.7 ± 4.1
Range	16.5–46.6	17.6–32.7
Underlying condition		
Acute leukemia	124 (63.6)	18 (64.3)
Chronic leukemia	19 (9.7)	3 (10.7)
Lymphoma	45 (23.1)	6 (21.4)
Other*	7 (3.6)	1 (3.6)
Conditioning regimen		
Myeloablative	40 (20.5)	6 (21.4)
RIC	155 (79.5)	22 (78.6)
TBI ≥ 12 Gy	22 (11.3)	5 (17.9)
Donor type		
MRD	62 (31.8)	7 (25.0)
MismRD	4 (2.1)	1 (3.6)
MUD	87 (44.6)	9 (32.1)
MismUD	42 (21.5)	11 (39.3)
Mismatches		
10/10	149 (76.4)	16 (57.1)
9/10	43 (22.1)	9 (32.1)
<8/10	3 (1.5)	3 (10.7)
CMV serostatus donor/recipient		
Donor +/recipient +	19 (19.7)	5 (17.9)
Donor –/recipient –	124 (63.6)	13 (46.4)
Donor +/recipient –	45 (23.1)	5 (17.9)
Donor –/recipient +	7 (3.6)	5 (17.9)
Duration of neutropenia, d		
Mean and SD	21.4 ± 12.5	27.0 ± 13.7
Range	0–102	8–64
Duration of hospitalization, d		
Mean and SD	43.2 ± 17.9	54.3 ± 26.0
Range	14–120	17–114
Intensive care, d		
Mean and SD	13.4 ± 15.1	10.4 ± 9.2
Range	1–62	2–24
Immunosuppressants received		
Calcineurin inhibitors	182 (93.3)	26 (92.9)
MMF	149 (76.4)	24 (85.7)
ATG	55 (28.2)	7 (25.0)
Steroids	159 (81.5)	21 (75.0)
Acute GI GVHD	7 (3.6)	4 (14.3)
Antibiotics received		
Carbapenem	87 (44.6)	21 (75.0)
Fluoroquinolone	185 (94.9)	27 (96.4)
Acylaminopenicillin+β-lactamase inhibitor	134 (68.7)	21 (75.0)
Glycopeptide	25 (12.8)	8 (28.6)
PPI received	129 (66.2)	20 (71.4)

ATG indicates antithymocyte globulin; BMI, body mass index; CMV, cytomegalovirus; GI GVHD, gastrointestinal graft-versus-host-disease; MismMRD, mismatched related donor; MRD, matched related donor; MismUD, mismatched unrelated donor; MUD, matched unrelated donor; MMF, mycophenolate mofetil; PPI, proton pump inhibitor; RIC, reduced-intensity conditioning; TBI, total body irradiation. Data presented are n (%) unless otherwise indicated.

* Other includes aplastic anemia (n = 5), osteomyelofibrosis (n = 3), and idiopathic thrombocytopenia (n = 2).

C. Difficile Infection in Allogeneic Stem Cell Transplantation Recipients

In the group of patients undergoing aSCT, acute leukemia was the most frequently documented reason for performing aSCT (n = 142, 63.7%). The majority of aSCT were preceded by reduced-intensity conditioning (n = 177, 79.4). Less than half

Table 2B
Characteristics of aSCT Recipients with and without Acute Gastrointestinal GVHD

Variables	First Hospitalizations without Acute Gastrointestinal GVHD (n = 212)	First Hospitalizations with Acute Gastrointestinal GVHD (n = 11)
Age, yr		
Mean and SD	47.1 ± 13.9	46.1 ± 11.5
Range	17-72	22-67
Female	92 (43.4)	1 (9.1)
BMI		
Mean and SD	24.5 ± 4.2	25.7 ± 3.7
Range	16.5-46.6	20.0-30.0
Underlying condition		
Acute leukemia	133 (62.7)	9 (81.8)
Chronic leukemia	22 (10.4)	0 (0.0)
Lymphoma	49 (23.1)	2 (18.2)
Other*	8 (3.8)	0 (0.0)
Conditioning regimen		
Myeloablative	40 (18.9)	6 (54.5)
RIC	172 (81.1)	5 (45.5)
TBI ≥ 12 Gy	22 (10.4)	5 (45.5)
Donor type		
MRD	69 (32.5)	0 (0.0)
MismRD	5 (2.4)	0 (0.0)
MUD	90 (42.5)	6 (54.5)
MismUD	48 (22.6)	5 (45.5)
Mismatches		
0/10	159 (75.0)	6 (54.5)
1/10	50 (23.6)	5 (45.5)
≤2/10	3 (1.4)	0 (0.0)
CMV serostatus donor/recipient		
Donor +/recipient+	55 (25.9)	2 (18.2)
Donor -/recipient-	80 (37.7)	7 (63.6)
Donor +/recipient-	38 (17.9)	1 (9.1)
Donor -/recipient+	39 (18.4)	1 (9.1)
Duration of neutropenia, d		
Mean and SD	22.0 ± 12.8	24.7 ± 12.2
Range	0-102	13-55
Duration of hospitalization, d		
Mean and SD	43.3 ± 17.9	68.7 ± 29.9
Range	14-119	35-120
Intensive care, d		
Mean and SD	12.9 ± 14.2	12.4 ± 16.6
Range	1-62	2-41
Immunosuppressants received		
Calcineurin inhibitors	199 (93.9)	9 (81.8)
MMF	163 (76.9)	10 (90.9)
ATG	59 (27.8)	3 (27.3)
Glucocorticosteroids	170 (80.2)	10 (90.9)
CDI	24 (11.3)	4 (36.4)
Antibiotics received		
Carbapenem	99 (46.7)	9 (81.8)
Fluoroquinolone	202 (95.3)	10 (90.9)
Acylaminopenicillin+β-lactamase inhibitor	147 (69.3)	8 (72.7)
Glycopeptide	28 (13.2)	5 (45.5)
PPI received	139 (65.6)	10 (90.9)

aSCT indicates allogeneic stem cell transplantation; ATG, antithymocyte globulin; BMI, body mass index; CMV, cytomegalovirus; GI GVHD, gastrointestinal graft-versus-host-disease; MismMRD, mismatched related donor; MRD, matched related donor; MismUD, mismatched unrelated donor; MUD, matched unrelated donor; MMF, mycophenolate mofetil; PPI, proton pump inhibitor; RIC, reduced-intensity conditioning; TBI, total body irradiation. Data presented are n (%) unless otherwise indicated.
* Other includes aplastic anemia (n = 5), osteomyelofibrosis (n = 3), and idiopathic thrombocytopenia (n = 2).

of the patients underwent TBI (n = 85, 38.1%). The majority of the donors were matched unrelated donors (n = 96, 43.0%) or matched related donors (n = 69, 30.9%). The mean duration of neutropenia and length of stay were 22.1 days (SD, 12.8 days) and 44.6 days (SD, 19.4 days), respectively. For immunosuppression, calcineurin inhibitors were selected in

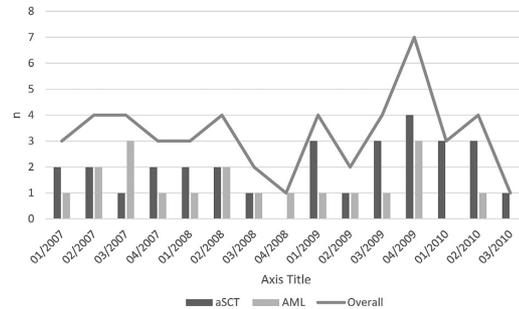


Figure 1. Distribution of CDI cases over time.

208 hospitalizations (93.9%). Fluoroquinolone prophylaxis was administered in 212 hospitalizations (95.1%). The combination of an acylaminopenicillin+β-lactamase inhibitor was the class of antibiotics most frequently used for treatment (n = 155, 69.5%), followed by the carbapenems (n = 108, 48.4%).

The occurrence rate of diarrhea was 177 of 229 (77.3%) for hospitalizations and 172 of 223 (77.1%) for patients. Incidence rate of CDI was 27.4 per 10,000 patient days in aSCT recipients, yielding a crude incidence of 28 of 223 (12.6%) for hospitalizations and 30 of 229 (13.1%) for patients.

Table 3
Results of Backward-Stepwise Binary Logistic Regression Analysis Assessing Risk Factors for CDI in Patients with AML and aSCT

Univariate	Multivariate (Only Remaining Variables)		
Variable	P Value	P Value	Odds Ratio
Dependent variable: CDI in AML patients			
Age > 60	.159		
Chemotherapy type	.440		
Duration of neutropenia	.336		
Duration of hospitalization	.197		
Cephalosporin	.056		
Fluoroquinolone	.711		
Acylaminopenicillin+β-lactamase inhibitor	.238	.015	.754
Carbapenem	.005	.005	2.174
Glycopeptide	.280		
Aminoglycosides	.234		
Overall number of antibiotics	.175		
PPI	.931		
Dependent variable: CDI in aSCT patients			
Age > 60	.137		
Underlying condition	.901		
Conditioning regimen	.911		
Chemotherapy before aSCT	.996		
Duration of neutropenia	.029		
Duration of hospitalization	.005		
TBI ≥ 12 Gy	.319		
Acute gastrointestinal GVHD	.088		
Fluoroquinolones	.722		
Acylaminopenicillin+β-lactamase inhibitor	.500		
Carbapenem	.003	.004	1.389
Glycopeptide	.028		
Overall number of antibiotics	.006		
PPI	.579		

AML indicates acute myelogenous leukemia; aSCT, allogeneic stem cell transplantation; CDI, *Clostridium difficile* infection; GVHD, gastrointestinal graft-versus-host-disease; PPI, proton pump inhibitor; TBI, total body irradiation.

Among aSCT recipients, 23 of 28 cases (82.1%) occurred within the first month after transplantation. Median time from initiation of chemotherapy to CDI was 17 days (range, 6 to 79). Except for a moderate increase in the number of cases in the fourth quarter of 2009, the incidence rate in the observed populations was stable (Figure 1). None of these patients shared the room of another aSCT patient with CDI. There were 6 aSCT patients with positive *C. difficile* toxin test results not fulfilling clinical criteria of CDI. No patient was infected by a NAP1 strain.

In aSCT recipients, carbapenem exposure was identified as a risk factor by logistic regression, with an associated OR of 1.4. Details are given in Table 3.

Concerning risk factors for the development of acute gastrointestinal GVHD, logistic regression analysis identified TBI > 12 Gy (OR, 8.2), CDI (OR, 3.3), and glycopeptide exposure (OR, 1.2) as relevant. Details are given in Table 4.

Treatment Results for CDI

Most patients received CDI therapy with oral metronidazole (AML patients, 9 of 18; 50.0% and aSCT patients, 14 of 28; 50.0%). In only 1 patient of each group, oral vancomycin was administered, exclusively. In 5 hospitalizations of AML patients and 9 hospitalizations of aSCT patients, a combination of oral vancomycin and metronidazole (i.v. and/or p.o.) was used. In 3 AML episodes and 4 aSCT hospitalizations, no specific therapy was administered and diarrhea resolved spontaneously.

For metronidazole monotherapy, the response rate at day 10 was 66.7% in AML episodes and 64.3% in aSCT hospitalizations. Mean time to resolution of diarrhea was 8.9 and 8.1 days, respectively. For patients receiving a combination of metronidazole and vancomycin, the response rate was 20.0% in AML hospitalizations and 37.5% in aSCT hospitalizations. Mean time to success was 13.6 and 20.3 days, respectively. Only 1 patient in the AML group had a documented relapse.

DISCUSSION

The present study assessed the epidemiology and treatment of CDI, as well as associated risk factors in patients being treated for AML and those undergoing aSCT. CDI incidence rates per 10,000 patient days were 17.9 for AML patients and 27.4 for aSCT recipients. The incidence rate of CDI per hospitalization was 6.1% and 12.6%, respectively. These data are in concordance with results from previous studies in the respective patient populations [4,7,8,10,11,20–22]. For the

first time, we were able to pinpoint carbapenem use as a main driver of CDI in hematological patients.

In our population of AML patients, administration of carbapenems was the only independent risk factor. Schalk et al. identified duration of neutropenia and antibiotic treatment with ceftazidime as independent risk factors for the development of CDI in AML patients receiving cytarabine-based induction chemotherapy [4]. These risk factors could not be confirmed by our analysis; however, it should be pointed out that ceftazidime is not used for the treatment of febrile neutropenia in our department and could, therefore, not be assessed. Concerning recipients of aSCT, 3 previous studies have analyzed 185, 205, and 407 aSCT hospitalizations and identified cord blood SCT, TBI \geq 12 Gy, acute GVHD, receipt of chemotherapy before conditioning for aSCT, age > 60 years, broad-spectrum antimicrobial use, and colonization with vancomycin-resistant enterococci as risk factors for CDI [7,8,11]. Wherever possible, the variables used in our logistic regression analysis were defined to allow comparison with previous analyses. Because none of our patients received cord blood transplantation, we were not able to assess this variable. Total body irradiation \geq 12 Gy, age > 60 years, and administration of chemotherapy before conditioning for aSCT were not confirmed by our analysis. However, these differences might reflect underlying changes in transplantation practices, as our patient population included more recently performed transplantations. As an example, myeloablative conditioning regimens and TBI \geq 12 Gy are currently being superseded by reduced-intensity conditioning with reduced TBI or no TBI at all in response to the increasing age and comorbidity of aSCT recipients.

Of note, an important previously identified risk factor that is not involved in the choice of conditioning treatment, ie, exposure to broad-spectrum antibiotics, was confirmed by our logistic regression analysis. Exposure to carbapenems was associated with an OR of 1.4. Development of CDI and colonization with vancomycin-resistant enterococci are both considered the result of dysbiosis after antibiotic exposure [23,24]. Our identification of the carbapenems as the most important risk factor for CDI in both AML and aSCT patients is supported by results from a large meta-analysis of 33 trials, in which empirical antibiotic monotherapy for febrile neutropenia with a carbapenem was associated with a relative risk of developing CDI of 1.94 (confidence interval, 1.24 to 3.04; $n = 2025$) [16]. Given the identification of carbapenem exposure as a significant risk factor for CDI in both groups (AML patients and aSCT recipients), they might indeed represent a reasonable target for an antibiotic stewardship intervention.

There was no major change in our CDI case rate per quarter. Rates peaked once during the fourth quarter of 2009; however, this increase did not persist (Figure 1). These stable rates over time are somewhat surprising, as the incidence rate of CDI has repetitively been reported as being on a substantial rise since the emergence of the NAP1 strain in North America and Europe [25,26]. It seems that, to date, the presence of this hyper-virulent strain in Europe is limited to regional outbreaks. Strains other than NAP1 account for the majority of CDI cases [27].

Finally, our assessment of the relationship between the occurrence of CDI and consecutive acute gastrointestinal GVHD showed a significant association (OR, 3.3), confirming findings from previous analyses [7,9–11]. In this context, the increasing number of publications linking major shifts in the composition of the intestinal microbiota to the occurrence of

Table 4
Results of Backward-Stepwise Binary Logistic Regression Analysis Assessing Risk Factors for Acute Gastrointestinal GVHD in aSCT Patients

Dependent Variable: Acute Gastrointestinal GVHD in aSCT Patients			
Univariate		Multivariate (Only Remaining Variables)	
Variable	P Value	P Value	Odds Ratio
Age > 60	.303		
Underlying condition	.281		
CMV status	.278		
Mismatches	.229		
TBI \geq 12 Gy	.001	.003	8.155
CDI	.015	.098	3.286
Glycopeptide	.003	.014	1.211

aSCT indicates allogeneic stem cell transplantation; CDI, *Clostridium difficile* infection; GVHD, gastrointestinal graft-versus-host-disease; PPI, proton pump inhibitor; TBI, total body irradiation.

gastrointestinal GVHD should be pointed out. Jenq et al. could show that administration of ampicillin led to the elimination of Lactobacillales from the intestinal microbiota of mice undergoing bone marrow transplantation [17]. As opposed to mice that had not received ampicillin treatment, these mice also experienced aggravated gastrointestinal GVHD. The authors report that analogous patterns could be identified in fecal samples of human aSCT recipients. If acute gastrointestinal GVHD can indeed be triggered by a loss of diversity in the composition of the intestinal microbiota, the strong link to the previous occurrence of CDI is easily explained by the fact that CDI itself is a marker of severe dysbiosis.

In conclusion, our study showed considerable CDI incidence rates of 17.9 cases per 10,000 AML patient days and of 27.4 per for 10,000 patient days of aSCT recipients. In both groups, previous exposure to carbapenems was identified as a significant risk factor for the development of CDI. Furthermore, CDI itself was shown to be a risk factor for the development of acute gastrointestinal GVHD. These findings underscore the potential dangers of dysbiosis of the gut microbiota. A follow-up study, assessing the effect of an antibiotic stewardship intervention to decrease the administration of carbapenems in hematological high-risk patients is warranted.

ACKNOWLEDGMENTS

Financial disclosure: The authors have nothing to disclose.

Conflict of interest statement: M.J.G.T.V. served at the speakers' bureau of Pfizer, Merck, Gilead Sciences, and Astellas Pharma; received research funding from 3M, Gilead, and Astellas Pharma; and has been a consultant to Gaea Pharma. L.M.B received lecture honoraria from Astellas and MSD. D.T. served at the speakers' bureau of Astellas and received travel grants from MSD and Gilead Sciences GmbH. J.J.V. received research grants from Astellas, Gilead Sciences, Infectopharm, Pfizer, and Essex/Schering-Plough and served on the speakers' bureau of Merck Sharp Dohme/Merck, Gilead Sciences, Pfizer, and Essex/Schering-Plough. M.v.B.B. received research grants, travel assistance, and consulting and speaker fees from Astellas Pharma. O.A.C. is supported by the German Federal Ministry of Research and Education (BMBF grant 01KN1106) and the European Commission, and has received research grants from, is an advisor to, or received lecture honoraria from Actelion, Astellas, Basilea, Bayer, Celgene, Cubist, F2G, Genzyme, Gilead, GSK, Merck/MSD, Miltenyi, Optimer, Pfizer, Quintiles, Sanofi Pasteur, Summit/Vifor, and Viropharma. The remaining authors have no conflicts of interest to report.

SUPPLEMENTARY DATA

Supplementary data related to this article can be found online at <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbmt.2014.02.022>.

REFERENCES

- Bauer MP, Kuijper EJ, van Dissel JT, et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): Treatment guidance document for Clostridium difficile infection (CDI). *Clin Microbiol Infect*. 2009;15:1067-1079.
- Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, et al. Clinical practice guidelines for Clostridium difficile infection in adults: 2010 update by the Society For Healthcare Epidemiology of America (SHEA) and the Infectious Diseases Society of America (IDSA). *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2010;31:431-455.
- Slimings C, Riley TV. Antibiotics and hospital-acquired Clostridium difficile infection: update of systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother*. 2014;69:881-891.
- Schalk E, Bohr UR, König B, et al. Clostridium difficile-associated diarrhoea, a frequent complication in patients with acute myeloid leukaemia. *Ann Hematol*. 2010;89:9-14.
- Gorschluter M, Marklein G, Hofling K, et al. Abdominal infections in patients with acute leukaemia: a prospective study applying ultrasonography and microbiology. *Br J Haematol*. 2002;117:351-358.
- Leung S, Metzger BS, Currie BP. Incidence of Clostridium difficile infection in patients with acute leukemia and lymphoma after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2010;31:313-315.
- Trifilio SM, Pi J, Mehta J. Changing epidemiology of Clostridium difficile-associated disease during stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2013;19:405-509.
- Willems L, Porcher R, Lafaurie M, et al. Clostridium difficile infection after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: incidence, risk factors, and outcome. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2012;18:1295-1301.
- Dubberke ER, Reske KA, Srivastava A, et al. Clostridium difficile-associated disease in allogeneic hematopoietic stem-cell transplant recipients: risk associations, protective associations, and outcomes. *Clin Transplant*. 2010;24:192-198.
- Chakrabarti S, Lees A, Jones SG, Milligan DW. Clostridium difficile infection in allogeneic stem cell transplant recipients is associated with severe graft-versus-host disease and non-relapse mortality. *Bone Marrow Transplant*. 2000;26:871-876.
- Alonso CD, Treadway SB, Hanna DB, et al. Epidemiology and outcomes of Clostridium difficile infections in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis*. 2012;54:1053-1063.
- Talpaert MJ, Gopal Rao G, Cooper BS, Wade P. Impact of guidelines and enhanced antibiotic stewardship on reducing broad-spectrum antibiotic usage and its effect on incidence of Clostridium difficile infection. *J Antimicrob Chemother*. 2011;66:2168-2174.
- Aldeyab MA, Devine MJ, Flanagan P, et al. Multihospital outbreak of Clostridium difficile ribotype 027 infection: epidemiology and analysis of control measures. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2011;32:210-219.
- Freifeld AG, Bow EJ, Sepkowitz KA, et al. Clinical practice guideline for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer: 2010 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2011;52:e56-e93.
- von Elm E, Altman DG, Egger M, et al. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *PLoS Medicine*. 2007;4:e296.
- Paul M, Yahav D, Fraser A, Leibovici L. Empirical antibiotic monotherapy for febrile neutropenia: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Antimicrob Chemother*. 2006;57:176-189.
- Jenq RR, Ubeda C, Taur Y, et al. Regulation of intestinal inflammation by microbiota following allogeneic bone marrow transplantation. *J Exp Med*. 2012;209:903-911.
- Nordrhein A. Berufsordnung für die nordrheinischen Ärztinnen und Ärzte. In: Nordrhein A, ed; 2011.
- Nordrhein-Westfalen L. Gesetz zum Schutz personenbezogener Daten im Gesundheitswesen (Gesundheitsdatenschutzgesetz - GDStG NRW). <https://recht.nrw.de>; 1999 [German].
- Gorschluter M, Glasmacher A, Hahn C, et al. Clostridium difficile infection in patients with neutropenia. *Clin Infect Dis*. 2001;33:786-791.
- Alclás J, Requejo A, Jaimovich G, et al. Clostridium difficile infection in patients with neutropenia. *Clin Infect Dis*. 2002;34:723.
- Dettenkofer M, Ebner W, Bertz H, et al. Surveillance of nosocomial infections in adult recipients of allogeneic and autologous bone marrow and peripheral blood stem-cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2003;31:795-801.
- Ubeda C, Taur Y, Jenq RR, et al. Vancomycin-resistant Enterococcus domination of intestinal microbiota is enabled by antibiotic treatment in mice and precedes bloodstream invasion in humans. *J Clin Invest*. 2010;120:4332-4341.
- van Nood E, Dijkgraaf MG, Keller JJ. Duodenal infusion of feces for recurrent Clostridium difficile. *N Engl J Med*. 2013;368:2145.
- Loo VG, Poirier L, Miller MA, et al. A predominantly clonal multi-institutional outbreak of Clostridium difficile-associated diarrhea with high morbidity and mortality. *N Engl J Med*. 2005;353:2442-2449.
- Warny M, Pepin J, Fang A, et al. Toxin production by an emerging strain of Clostridium difficile associated with outbreaks of severe disease in North America and Europe. *Lancet*. 2005;366:1079-1084.
- Bauer MP, Notermans DW, van Bentem BH, et al. Clostridium difficile infection in Europe: a hospital-based survey. *Lancet*. 2011;377:63-73.

3 Diskussion

3.1 Inzidenz von CDI

Die in dem hier untersuchten Patientenkollektiv ermittelte Inzidenz der CDI betrug 17,9 pro 10.000 Patiententage. In 6% der Krankenhausaufenthalte kam es bei AML-Patienten zum Auftreten von CDI, bezogen auf Patienten ergab sich eine Inzidenz von 12 %.

Diese Häufigkeiten entsprechen in etwa den Angaben aus bisherigen Untersuchungen: In einer Studie mit AML-Patienten, die eine Ara-C-basierte Chemotherapie erhielten, fanden Schalk et al. eine Inzidenz von 9% pro Chemotherapiezyklus. 18% der Patienten erkrankten mindestens einmal an CDI (Schalk *et al.* 2010). Eine Untersuchung von Patienten mit Chemotherapie-induzierter Neutropenie durch Gorschlüter et al. ergab eine Häufigkeit von 7% der Neutropenie-Episoden und 14% der Patienten. Das untersuchte Patientenkollektiv bestand zu einem Großteil aus Patienten mit AML (Gorschluter *et al.* 2001).

Die in dieser Untersuchung bestimmte Inzidenz von CDI bei Patienten, die eine allo SZT benötigten, betrug 27,4 pro 10.000 Patiententage, 12% bezogen auf alle Krankenhausaufenthalte und 13% bezogen auf alle Patienten. Letzteres entspricht ungefähr den in vorherigen Studien ermittelten CDI-Raten von 13 bis 18% der Patienten (Alonso *et al.* 2012, Trifilio *et al.* 2012, Willems *et al.* 2012, Chopra *et al.* 2011, Dettenkofer *et al.* 2003). Wie auch bei den AML-Patienten wird hier die Vergleichbarkeit durch die fehlende einheitliche Angabe der Inzidenz pro Patiententage erschwert (s.u.).

In zwei Studien mit kleineren Patientenkollektiven berichteten die Autoren über höhere CDI-Raten von bis zu 30% der Patienten mit Diarrhoe nach allo SZT (Leung *et al.* 2010, Jia *et al.* 2008). Im Gegensatz dazu berichten Van Kraaij et al. in einer kleinen, prospektiven Studie über eine Inzidenz von nur 4% der Patienten nach autologer- oder allogener SZT. Keiner der 28 allogenen transplantierten Patienten in dieser Studie erkrankte an CDI (van Kraaij *et al.* 2000). Die Unterschiede zu der durch uns ermittelten Inzidenz könnten darin begründet sein, dass aufgrund der kleinen Patientengruppe zufällig keine CDI-Fälle auftraten. In den beiden erstgenannten Studien wurden die CDI-Raten nur in Bezug auf die Patienten, bei denen Diarrhoe auftrat, ermittelt, was zu einer positiv-Selektion zugunsten von höheren CDI-Inzidenzen führte.

Die Ergebnisse dreier aktueller, größere Patientenkollektive einschließender Studien zeigen hingegen eine gute Übereinstimmung in Bezug auf die Inzidenzen pro Patient von 13 bis 15% (Alonso *et al.* 2012, Trifilio *et al.* 2012, Willems *et al.* 2012).

In dieser Untersuchung wurde jeweils nur die erste Transplantationsepisode, nicht aber weitere SZT oder folgende stationäre Aufenthalte, eingeschlossen. Da aber ein Großteil der CDI-Erkrankungen in der frühen Phase nach der Transplantation auftritt (Alonso *et al.* 2012, Willems *et al.* 2012), sind die ermittelten Inzidenzen dennoch als repräsentativ anzusehen.

Die gefundene Inzidenz von CDI scheint nicht zuletzt auch von der mikrobiologischen Nachweismethode für Toxin-produzierende *C. diff.*-Stämme abzuhängen. So fanden Kamboj *et al.* in einer US-amerikanischen multizentrischen Studie mit onkologischen Patienten unter 307 allo SZT-Patienten eine CDI-Häufigkeit von 27% der Patienten (Kamboj *et al.* 2012). In 6 von 11 Zentren wurde dabei die PCR anstelle eines Enzymimmunoassays oder eines Zytotoxizitätstests eingesetzt. Insgesamt zeigte sich bei Nachweis mittels PCR eine deutlich höhere Rate für nosokomial erworbene CDI bei onkologischen Patienten. Ein weiterer Grund für die gefundene, höhere Inzidenz könnte die Definition von CDI sein, die in diesem Fall „nur“ einen Nachweis von *C. difficile*-Toxin A und/oder B im Stuhl erforderte. Generell werden durch PCR-Nachweis deutlich höhere CDI-Raten ermittelt als durch die bisher üblichen Methoden Enzymimmunoassay und Zytotoxizitätstest (Kaltsas *et al.* 2012, Fong *et al.* 2011).

In der Gegenüberstellung der Ergebnisse der bisherigen Studien zum Auftreten von CDI bei Patienten mit hämatologischer Grunderkrankung wird der Vergleich der Ergebnisse insgesamt dadurch erschwert, dass die Inzidenz in unterschiedlicher Form entweder pro Patient, pro Therapiezyklus oder pro Krankenhausaufenthalt angegeben wird. Zur besseren Vergleichbarkeit der Ergebnisse wird, neben einer standardisierten Definition von nosokomial erworbener CDI, die Ermittlung der Häufigkeit von CDI-Fällen pro 10.000 Patiententage empfohlen (Cohen *et al.* 2010).

Da es sich bei der CDI nicht um eine in jedem Fall meldepflichtige Erkrankung handelt (Robert-Koch-Institut 2011), ist es schwierig, die Inzidenz der nosokomial erworbenen CDI in Deutschland zu benennen. Bauer *et al.* ermittelten in einer europaweiten epidemiologischen Studie eine mittlere Inzidenz von 4,1 pro 10.000 Patiententage und von 23 pro 10.000 Krankenhausaufnahmen. Für die eingeschlossenen deutschen Krankenhäuser lag die mittlere Inzidenz bei 7,4 pro 10.000 Patiententage und 60,0 pro 10.000 Krankenhausaufnahmen (Bauer *et al.* 2011). Im Vergleich dazu liegen die in

dieser Arbeit ermittelten CDI-Inzidenzen für AML-Patienten und allo SZT-Patienten mit 17,9 pro 10.000 bzw. 27,4 pro 10.000 deutlich höher. Die bei den Patienten und im klinischen Setting vorhandenen Risikofaktoren sind hierfür offenbar von wesentlicher Bedeutung (s.u.).

Die Verteilung der Anzahl von CDI Fällen pro Quartal zeigte in dieser Untersuchung über den Zeitraum von 01/2007 bis 08/2010 keine starken Schwankungen (s. Figure 2). Lediglich im ersten Quartal des Jahres 2009 kam es zu einem Anstieg der CDI-Rate, der jedoch in den folgenden Quartalen keine Konstanz zeigte. In zwei weiteren Studien mit allo SZT-Patienten, die Zeiträume von 2003 bis 2008 (Alonso *et al.* 2012) bzw. von 2004 bis 2008 beschreiben (Willems *et al.* 2012), konnte ebenfalls kein signifikanter Anstieg der CDI-Inzidenz über den jeweiligen Zeitraum verzeichnet werden. Die zeitlich relativ stabilen Erkrankungsraten sind insofern überraschend, als dass seit dem Auftreten des RT027-Stamms in Nordamerika und Europa wiederholt über deutlich ansteigende CDI Raten berichtet wurde (Loo *et al.* 2005, Warny *et al.* 2005).

Da in den vorliegenden Studien (einschließlich dieser) keine Typisierung des jeweils vorliegenden *C. diff*-Stammes durchgeführt wurde, kann derzeit keine sichere Aussage zur Prävalenz der hypervirulenten Stämme bei hämato-onkologischen Hochrisikopatienten getroffen werden. Sollte es möglich sein, diese in zukünftigen Untersuchungen zu bestimmen, so ließe sich aus diesen Daten, zusammen mit der Bestimmung der CDI-Inzidenz in den entsprechenden Patienten-Gruppen, eine genauere Aussage bezüglich des Auftretens und der klinischen Relevanz der hypervirulenten Stämme treffen.

3.2 Risikofaktoren

Sowohl bei AML- als auch bei allo SZT-Patienten finden sich häufig mehrere der bekannten Risikofaktoren für eine Erkrankung an CDI. Dazu gehören Krankenhausaufenthalt, Gabe von Antibiotika, höheres Alter, Immunsuppression, schwere Grunderkrankung und Chemotherapie (Lo Vecchio *et al.* 2012, Bauer *et al.* 2011, Dubberke *et al.* 2007, Kyne *et al.* 2002).

Im untersuchten Kollektiv von AML-Patienten wurde der Einsatz von Carbapenemantibiotika als einziger unabhängiger Risikofaktor für das Auftreten von CDI ermittelt. Im Vergleich zu bisherigen Untersuchungen mit ähnlichen Patienten-Kollektiven fallen einige Unterschiede auf: Schalk *et al.* identifizierten die Gabe von

Ceftazidim und die Dauer der Neutropenie als unabhängige Risikofaktoren für CDI bei AML-Patienten, die eine Cytarabin-basierte Chemotherapie erhielten. Die Anzahl der verabreichten Antibiotika, die Dauer der antibiotischen Therapie sowie die Dosis der Chemotherapie waren nicht mit einem signifikant erhöhten Risiko für CDI assoziiert (Schalk *et al.* 2010). Die Risikofaktoren Neutropeniedauer und Ceftazidimtherapie konnten in unserer Analyse nicht bestätigt werden. Allerdings muss erwähnt werden, dass Ceftazidim in unserer Klinik nicht regelhaft zur Behandlung von Fieber in Neutropenie eingesetzt wird, sodass dieser potentielle Faktor nicht untersucht werden konnte. Da die Phase der Neutropenie die weitestgehende Abwesenheit eines funktionierenden zellulären Immunsystems markiert, verwundert es zunächst, dass wir diesen Risikofaktor in unserer Multivariatanalyse nicht bestätigen konnten. Die Ursache hierfür könnte sein, dass Schalk *et al.* nur eine Univariateanalyse durchführten, die eine weniger genaue Beurteilung der einzelnen Einflussgrößen zulässt. Ein großer Teil der Patienten, die sich nach hochdosierter Chemotherapie in Neutropenie befinden, entwickelt Fieber oder eine Infektion (Hiddemann *et al.* 1997). Da dies häufig den Einsatz von Antibiotika zur Folge hat, könnte die höhere CDI-Rate in diesem Zusammenhang auch mit einer erhöhten Antibiotikaexposition zusammenhängen. Inwiefern der Zustand der Neutropenie selbst in der Pathogenese der CDI eine Rolle spielt, ist bislang nicht genau bekannt.

In einer vergleichenden Studie mit Neutropenie- und Nicht-Neutropeniepatienten ermittelten Tunçan *et al.* den Einsatz von Antibiotika sowie die Dauer der Hospitalisierung als Risikofaktoren für CDI, insbesondere bei Neutropeniepatienten (Tunçan *et al.* 2008). Im Vergleich hierzu konnten wir für die Dauer des Krankenhausaufenthaltes als Risikofaktor in unserer Analyse zwar eine Tendenz, jedoch keine Signifikanz feststellen. Der Aufenthalt in einem Krankenhaus wird unter den Risikofaktoren für CDI im Allgemeinen häufig genannt (Loo *et al.* 2011, Rupnik *et al.* 2009). Gründe hierfür sind das Vorkommen von *C. diff.*-Bakterien in der Umgebung der Patienten, ihre lange Überlebensdauer trotz üblicher Desinfektionsmaßnahmen und die Übertragung der Erreger auf den Patienten z.B. durch das Krankenhauspersonal (Verity *et al.* 2001). Da alle von uns untersuchten Patienten stationär behandelt wurden, konnten wir nicht den Krankenhausaufenthalt selbst sondern nur die Dauer des Aufenthaltes als eigenständigen Risikofaktor evaluieren.

Im komplexen Setting der allo SZT und der nachfolgenden Therapie ist es schwierig, einzelne Risikofaktoren zu identifizieren, die als Einflussgrößen im Zusammenhang mit dem erhöhten Risiko für eine CDI eine Schlüsselrolle einnehmen. Dies spiegelt sich auch in den heterogenen Ergebnissen der bisherigen Studien zu diesem Thema wieder: In einer Fall-Kontroll-Studie von Alonso et al. wurden Risikofaktoren für 185 allo SZT-Patienten analysiert. Hierbei zeigten sich als unabhängige Risikofaktoren für das Auftreten einer CDI eine stattgehabte Chemotherapie vor der Konditionierung, der Erhalt von „Hochrisikoantibiotika“ (pseudomonaswirksame Penicillinderivate, Cephalosporine der 4. Generation, Carbapeneme, Clindamycin oder Fluorchinolone) nach Transplantation und das Auftreten einer aGvHD. Die Gabe von PPI war mit einem niedrigeren Risiko für eine Erkrankung an CDI assoziiert (Alonso *et al.* 2012). In einer Fall-Kontroll-Studie von Dubberke et al. zeigte sich neben der Gabe von 3./4.-Generation-Cephalosporinen auch ein Diabetes mellitus als RF (Dubberke *et al.* 2010). Trifilio et al. untersuchten Risikofaktoren für CDI bei 205 allo SZT-Patienten. Hier wurde neben einem Alter über 60 Jahre bemerkenswerterweise auch eine Kolonisation mit VRE als unabhängiger Risikofaktor für CDI ermittelt (Trifilio *et al.* 2012). In einer Studie von Willems et al. wurden in einem Kollektiv von 407 Patienten eine Konditionierung mit Ganzkörperbestrahlung ($TBI \geq 12$ Gray), das Auftreten einer aGvHD Grad 2 oder mehr und Nabelschnurblut als Stammzellquelle als unabhängige Risikofaktoren ermittelt (Willems *et al.* 2012). Die Variablen, die wir in unserer logistischen Regressionsanalyse verwendeten, wurden so definiert, dass sich eine möglichst große Vergleichbarkeit mit den Ergebnissen der bisherigen, oben genannten Studien ergab.

Da keiner der von uns untersuchten Patienten eine SZT aus Nabelschnurblut erhielt, konnte diese Variable hier nicht analysiert werden. Bestrahlung mit $TBI \geq 12$ Gy., Patientenalter > 60 Jahre und Chemotherapie vor der Konditionierung konnten in unserer Analyse nicht als unabhängige Risikofaktoren bestätigt werden. Eine Ursache für die gefundenen Unterschiede könnte in der sich fortlaufend ändernden Transplantationspraxis liegen. Die in dieser Arbeit untersuchten Transplantationsepisoden sind z.T. deutlich jüngeren Datums als die in den verglichenen Studien. Der Teil der Patienten, die für eine allo SZT in Frage kommen, weitet sich zunehmend auch auf solche höheren Alters oder mit bestehenden Komorbiditäten aus. Myeloablative Konditionierungsregime und intensive Bestrahlung werden mehr und mehr ersetzt durch Konditionierungsregime mit reduzierter Toxizität. Diese beinhalten

in der Regel nur eine weniger intensive oder gar keine Bestrahlung (Gooley *et al.* 2010, Aoudjhane *et al.* 2005).

Das Patientenalter scheint als Risikofaktoren für die CDI generell eine Rolle zu spielen (Dubberke *et al.* 2007). Dass in unserem Patientenkollektiv ein Alter über 60 Jahre nicht als Risikofaktor ermittelt wurde, könnte im Vergleich zu der o.g. Untersuchung von Trifilio *et al.* dadurch begründet sein, dass das durchschnittliche Alter unserer Patienten deutlich niedriger lag (s. Table 1 und 2a).

Die Gabe von Breitspektrumantibiotika wurde bereits in vorherigen Studien als wichtiger Risikofaktor beschrieben. Wir stellten mittels logistischer Regressionsanalyse fest, dass eine Therapie mit einem Carbapenem-Antibiotikum mit einem erhöhten Risiko (odds ratio: 1.4) für eine CDI assoziiert ist. Die Gruppe der Carbapeneme, mit den wichtigsten Vertretern Meropenem und Imipenem, gehört zu den Antibiotikagruppen, für die bei hospitalisierten Patienten ein erhöhtes Risiko für das Auftreten einer CDI beschrieben wurde (Slimings *et al.* 2014, Zhou *et al.* 2014). Der wegbereitende Effekt der antibiotischen Therapie mit einem Carbapenem für die Entwicklung einer CDI folgt wohl einem ähnlichen Muster wie bei anderen Antibiotikagruppen: Maßgeblich für die erhöhte Vulnerabilität des Darms gegenüber einer Ausbreitung von *C. diff.* und einer klinisch manifesten CDI ist offenbar eine Störung in der Zusammensetzung des mikrobiellen Milieus im Darm (s. Abb. 2). So kann eine antibiotische Therapie zu einer messbaren, z.T. massiven Veränderung der Zusammensetzung der Darmmikrobiota führen (Dethlefsen *et al.* 2008). Bei Patienten nach allo SZT, die an CDI erkranken, findet man ebensolche Veränderungen, die eine signifikante Abnahme der Menge und Art an kommensalen Bakterien anzeigen (Jia *et al.* 2008).

In Hamstermodellen konnte gezeigt werden, dass während und nach einer mehrtägigen Gabe von Clindamycin, Ampicillin oder Ceftriaxon eine besonders hohe Anfälligkeit für CDI besteht (Merrigan *et al.* 2003a). Es zeigte sich, dass sich Clindamycin-sensible Bakterien der Darmmikrobiota unter der Gabe des Antibiotikums deutlich schlechter vermehren konnten und weniger in der Lage waren, eine CDI durch ihre Anwesenheit zu verhindern (Merrigan *et al.* 2003b). Umgekehrt zeigen die Erfolge der Therapie von CDI-Rückfällen mittels „Stuhltransplantation“ (duodenale Infusion von aufbereiteter Donorfäzes), dass der Integrität bzw. der Wiederherstellung des mikrobiellen Darmmilieus zur Verhinderung des Wiederauftretens von CDI eine entscheidende Rolle zukommt (van Nood *et al.* 2013).

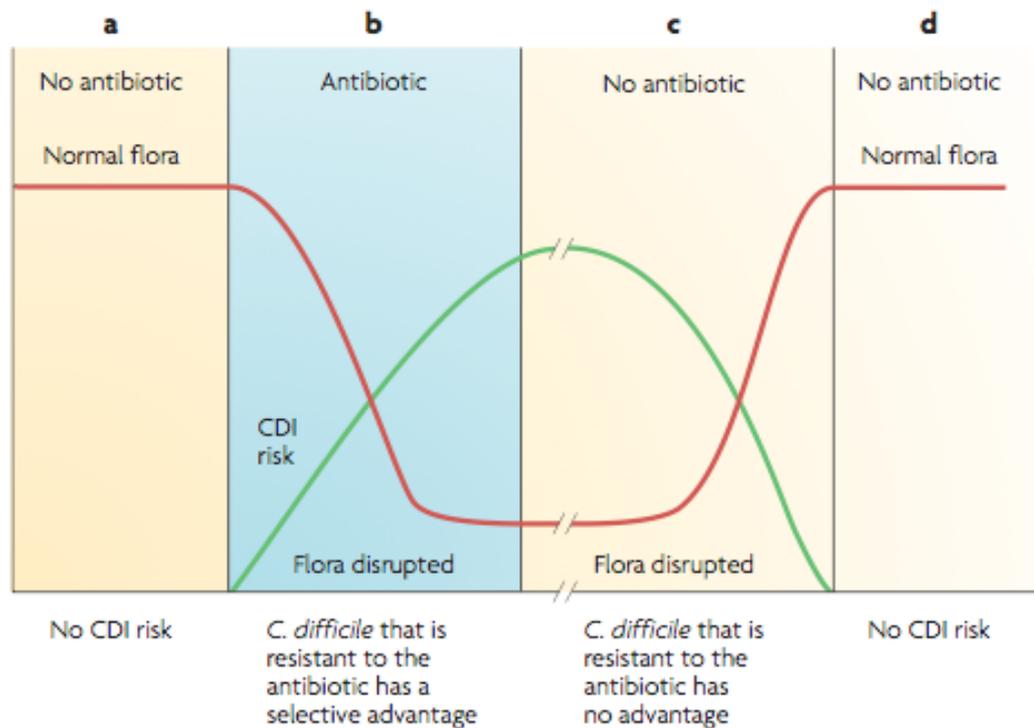


Abbildung 2 - Effekt von Antibiotika auf die normale Darmflora und Risiko für CDI

Ohne Störung der Darmflora durch Antibiotika weitgehende Resistenz gegenüber CDI (a). Störung der normalen Darmflora und erhöhte Wahrscheinlichkeit für CDI unter Antibiotika-Gabe (b). Nach Therapie-Ende (in Abhängigkeit vom Antibiotikum) weiterhin bestehende, zeitlich sehr variable („Bruch“ im Graphen), Störung der Darmflora. Bei fehlender antibiotischer Wirkung besitzen resistente *C. diff.*-Stämme hier keinen Selektionsvorteil mehr (c). Bei Normalisierung des mikrobiellen Milieus Wiederherstellung der Resistenz gegenüber CDI (d). (Rupnik *et al.* 2009)

Ähnlich der Entwicklung von CDI wird auch die Kolonisation mit VRE als Folge einer Veränderung der Darmmikrobiota nach Antibiotika-Exposition angesehen (Ubeda *et al.* 2010). Hier ergibt sich ein möglicher Zusammenhang mit dem von Trifilio *et al.* ermittelten Risikofaktor der VRE-Kolonisation. Leider konnte in dieser Untersuchung kein VRE-Kolonisationsstatus erhoben werden, um diesen möglichen Zusammenhang genauer zu prüfen.

Bemerkenswerterweise konnten wir die Gabe von Carbapenem-Antibiotika als unabhängigen Risikofaktor für eine CDI sowohl bei AML- als auch bei allo SZT-Patienten ermitteln. Carbapeneme gehören zu den häufig bei hämato-onkologischen Patienten mit hohem Infektionsrisiko eingesetzten Antibiotika, sie werden unter anderem als empirische Therapie bei Fieber in der Neutropenie eingesetzt (Link *et al.* 2003). Die von

uns ermittelte Verbindung zwischen Einsatz von Carbapenemen und dem Auftreten von CDI wird unterstützt durch die Ergebnisse einer großen Metaanalyse, die Ergebnisse aus 33 Studien zur empirischen antibiotischen Therapie bei febriler Neutropenie untersuchte. In dieser Analyse zeigte sich, dass eine empirische Monotherapie mit einem Carbapenem-Antibiotikum mit einem erhöhten Risiko (RR=1.94, CI 1,24-3,04, n=2025) für das Auftreten einer CDI assoziiert ist (Paul *et al.* 2006). Da die Exposition gegenüber Carbapenemen bei AML- und bei allo SZT-Patienten einen Risikofaktor für die CDI darstellt, liegt der Gedanke nahe, dass diese Patientengruppen möglicherweise von Strategien zum rationalen Einsatz von Antibiotika („antibiotic stewardship“) profitieren könnten. Die Umsetzung solcher „antibiotic stewardship“-Programme scheint bei hospitalisierten Patienten einen protektiven Effekt bezüglich des Auftretens von CDI zu besitzen (Feazel *et al.* 2014). Da es sich bei den hier untersuchten Patientengruppen um Hochrisikopatienten für schwere, potenziell lebensbedrohliche Infektionen handelt, kann jedoch häufig nicht auf eine notwendigenfalls breite, empirische, antibiotische Therapie verzichtet werden. Die „European Conference on Infections in Leukemia“ empfiehlt in der aktuellen Leitlinie zur antibakteriellen Therapie von Patienten mit Fieber in Neutropenie eine initiale empirische Therapie mit Carbapenemen und anderen Reserve-Antibiotika nur bei Patienten mit bekannter vorheriger Kolonisation oder Infektion mit resistenten Bakterien, bei kompliziertem Verlauf oder bei Verbreitung von Problem-Keimen (z.B. ESBL-Bilder) innerhalb der behandelnden Institution (Averbuch *et al.* 2014).

Ob es unter der Durchführung von „antibiotic stewardship“-Programmen zu einer meßbaren Reduktion von CDI-Erkrankungen bei hämato-onkologischen Hochrisikopatienten kommt, werden möglicherweise zukünftige Untersuchungen zeigen.

3.3 CDI und Graft-versus-Host Disease

Eine gastrointestinale aGvHD wurde in allo SZT-Episoden, in denen eine CDI auftrat, in 4 von 28 (14%) Fällen histopathologisch oder endoskopisch nachgewiesen. Für die Episoden, in denen keine CDI auftrat, lag die Häufigkeit bei 7 von 195 (4%) Fällen.

In der Regel wird die Diagnose gastrointestinale aGvHD anhand von klinischen Parametern wie Diarrhoe, Übelkeit, Erbrechen und abdominellen Schmerzen gestellt (Devergie 2008, Leisenring *et al.* 2006). Zusätzlich sollte sie zeitnah durch eine

endoskopische Untersuchung des Gastrointestinaltraktes und die histopathologische Untersuchung von entnommenen Gewebeproben gesichert werden (Dignan *et al.* 2012). Unter Einbeziehung von nach klinischen Parametern diagnostizierten Fällen von aGvHD würden sich vermutlich höhere Werte für die jeweilige Häufigkeit ergeben. Um auszuschließen, dass es im komplexen Setting der allo SZT mit seinen vielfältigen Ursachen für gastrointestinale Beschwerden und Diarrhoe zu Berechnungen auf der Grundlage falsch-positiver Diagnosen kommt, wurde die Risikofaktoranalyse in Bezug auf die pathologisch/endoskopisch diagnostizierten Fälle von gastrointestinaler aGvHD durchgeführt.

In der Analyse zeigte sich ein signifikant erhöhtes aGvHD-Risiko (odds ratio: 3.3) für Patienten, bei denen in derselben Episode auch eine CDI auftrat. Dieses Ergebnis unterstützt die Ergebnisse mehrerer vorausgegangener Studien, die einen Zusammenhang zwischen CDI und GvHD im Kontext der allo SZT beschreiben: So ermittelten Chakrabarti *et al.* eine Assoziation zwischen CDI und höhergradiger (Grad 3-4) aGvHD in einer retrospektiven Analyse von 75 allo SZT-Patienten (Chakrabarti *et al.* 2000). Dubberke *et al.* konnten nicht nur einen Zusammenhang zwischen CDI und einer nachfolgenden aGvHD ermitteln, CDI zeigte sich auch als signifikanter Risikofaktor für schwere aGvHD und gastrointestinale aGvHD (Dubberke *et al.* 2010). Alonso *et al.* fanden ein signifikant erhöhtes Risiko für gastrointestinale aGvHD bei Patienten mit CDI, in 86 % der Fälle ging die Diagnose der CDI der aGvHD voraus (Alonso *et al.* 2012). Trifilio *et al.* ermittelten eine signifikant höhere Inzidenz von Grad 3-4 gastrointestinaler aGvHD bei CDI Patienten zu den Zeitpunkten 60 und 100 Tage nach der Transplantation (Trifilio *et al.* 2012).

In einem gewissen Unterschied zu diesen Ergebnissen stehen die Ergebnisse von Willems *et al.*, die zwar eine aGvHD \geq Grad 2 als Risikofaktor für CDI bei allo SZT-Patienten sowie eine starke Assoziation von gastrointestinaler aGvHD zu spät im Verlauf nach Transplantation auftretender CDI darstellten, aber gleichzeitig bei Patienten mit CDI kein höheres Risiko für eine folgende aGvHD \geq Grad 2 oder eine gastrointestinale aGvHD fanden (Willems *et al.* 2012).

Ob nun eine CDI die Entstehung einer folgenden aGvHD fördert oder es aufgrund einer Störung der Integrität der Darmmukosa und ihrer physiologischen Barrieren bei aGvHD zu einer Ausbreitung von pathogenen *C. diff.*-Bakterien kommt, kann in der Zusammenschau der bisherigen Untersuchungen nicht eindeutig geklärt werden. Es bleibt jedoch festzustellen, dass in allen genannten Studien eine Verbindung zwischen

CDI und aGvHD ermittelt werden konnte. In diesem Zusammenhang sollte erwähnt werden, dass in einer zunehmenden Zahl von Publikationen eine Verbindung zwischen Störungen in der Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota und dem Auftreten von gastrointestinaler aGvHD beschrieben wird. So konnten Jenq et al. zeigen, dass die Gabe von Ampicillin bei Mäusen nach allo SZT zur Elimination von *Lactobacillus* spp. aus der Darmmikrobiota führte. Diese Mäuse erlitten in der Folge schwerere gastrointestinale aGvHD als Mäuse, die kein Ampicillin erhalten hatten. Bei humanen allo SZT Empfängern mit aGvHD zeigten sich ähnliche Veränderungen in der Zusammensetzung der Darmmikrobiota wie bei den mit Ampicillin behandelten Mäusen. Außerdem zeigte sich bei Patienten, die später eine GvHD entwickelten, nach der SZT eine signifikant stärkere Veränderung der Darmmikrobiota („microbial chaos“) im Vergleich zu nicht-GvHD Patienten. Die Autoren schlossen hieraus, dass eine frühe Fluktuation in der Zusammensetzung der Mikrobiota zu einem erhöhten Risiko für GvHD führt (Jenq *et al.* 2012). Holler et al. ermittelten deutliche Verschiebungen in der Zusammensetzung der Darmmikrobiota bei Patienten nach allo SZT. Es zeigte sich eine starke Reduktion der üblicherweise vorliegenden hohen Diversität der Darmmikrobiota hin zum überproportionalen Auftreten von *Enterococcus* spp.. Diese Veränderungen traten insbesondere im zeitlichen Zusammenhang mit dem Einsatz von Antibiotika auf. Bei Patienten, die an gastrointestinaler aGvHD erkrankten, zeigten sich die Verschiebungen besonders deutlich (Holler *et al.* 2014). Wenn also eine gastrointestinale aGvHD tatsächlich durch Änderungen in der Zusammensetzung der Darmmikrobiota „getriggert“ werden kann, so lässt sich eine Parallele zur CDI erkennen. Auch hier begünstigt eine Veränderung der Mikrobiota maßgeblich die Entstehung der Erkrankung. Das Auftreten von CDI wäre in diesem Fall ein Marker für eine schwere Störung in der Zusammensetzung des physiologischen mikrobiellen Darmmilieus und letztere würde das Auftreten von aGvHD begünstigen. Hier bedarf es weiterer Untersuchungen zur genaueren Klärung der Pathomechanismen und Wirkungsbeziehungen. Sollte sich in zukünftigen Untersuchungen die Durchführung von „antibiotic stewardship“-Programmen in Bezug auf das Auftreten von CDI als erfolgreich erweisen, so ist möglicherweise auch ein positiver Effekt in Bezug auf das Auftreten von gastrointestinaler aGvHD zu erwarten.

3.4 Antibiotische Therapie

Gemäß den Empfehlungen zur antibiotischen Therapie der CDI (Cohen *et al.* 2010, Bauer *et al.* 2009) wurden die Patienten mit Metronidazol (p.o./i.v.) oder Vancomycin (p.o.) oder, falls dies notwendig war, mit einer Kombination aus beiden Wirkstoffen behandelt. Es wurde bei den hier untersuchten Patienten häufig im Einzelfall und nach klinischem Verlauf entschieden, ob die antibiotische Therapie beizubehalten, umzustellen oder zu erweitern war. Auch die empfohlene Dauer der Therapie von 10 Tagen wurde je nach Verlauf durchaus modifiziert. Das von uns bestimmte Ansprechen auf die antibiotische Therapie nach 10 Tagen lag für die Metronidazol Monotherapie mit 67% (AML-Patienten) und 64% (allo SZT-Patienten) relativ niedrig, jedoch kam es bei allen Patienten im Verlauf zum Sistieren der Diarrhoen. Für die Therapie mit einer Kombination aus Metronidazol und Vancomycin lag die Rate mit 20% (AML-Patienten) und 38% (allo SZT-Patienten) noch niedriger, allerdings kam es auch hier bei allen bis auf einen Patienten zum dauerhaften Sistieren der Diarrhoen. In vergleichbaren Studien mit AML- bzw. Neutropeniepatienten hat sich die Therapie mit Metronidazol p.o. beim ersten Auftreten von CDI mit Ansprechraten von 84 bis 91% (nach 12 bzw. 14 Tagen) als effektiv erwiesen. Für die Therapie mit Vancomycin p.o. lagen die Raten sogar bei jeweils 100% (Schalk *et al.* 2010, Gorschluter *et al.* 2001).

Die Autoren der vorliegenden Studien, die die Ergebnisse der antibiotischen Therapie von CDI bei allo SZT-Patienten untersuchten, beschreiben die Therapie mit Metronidazol oder Vancomycin p.o. ebenfalls als effektiv (Alonso *et al.* 2012, Willems *et al.* 2012, Chopra *et al.* 2011). Zwar wurde in keiner der genannten Studien in ähnlicher Weise das Ansprechen auf die Therapie zu einem definierten Zeitpunkt bestimmt, in zwei Studien ermittelten die Autoren jedoch eine mittlere Dauer der Therapie mit Metronidazol p.o. von 11 bzw. 15 Tagen (Willems *et al.* 2012, Chopra *et al.* 2011). Diese lag in dieser Untersuchung mit 8,1 Tagen etwas niedriger, wobei eine große Spannweite der Werte zu beobachten war. Die mittlere Dauer bis zum Sistieren der Diarrhoen lag für die Therapie mit einer Kombination aus Metronidazol und Vancomycin mit 20,3 Tagen deutlich höher. Dies lässt sich unter anderem dadurch erklären, dass der Zeitraum ab dem Beginn der initialen Therapie gemessen wurde und es sich in der Regel um schwerer betroffene Patienten handelte.

Daten von hospitalisierten (nicht-hämatologischen) CDI-Patienten, die mit Metronidazol oder Vancomycin p.o. behandelt wurden, legen nahe, dass es beim Ansprechen auf die

antibiotische Therapie binnen 5-10 Tagen in fast allen Fällen zum Sistieren der Diarrhoen kommt (Al-Nassir *et al.* 2008).

Die Beurteilung des Therapieerfolges wird dadurch erschwert, dass die Stuhlkonsistenz und -frequenz hier als klinische Parameter die Hauptrolle spielen (Bauer *et al.* 2009). Insbesondere bei den hier untersuchten Patientengruppen kann es beim Vorliegen von anderen Ursachen für Diarrhoe wie therapiebedingter Mukositis, Medikamentennebenwirkungen oder neutropenischer Enterokolitis zur falsch-negativen Beurteilung des Therapieansprechens kommen. Es ist jedoch in Anbetracht der vorliegenden Daten nicht auszuschließen, dass es bei AML- und allo SZT-Patienten häufiger zu prolongierten Verläufen der CDI-Erkrankung kommt.

Das Auftreten von CDI-Rückfällen konnte leider in dieser Arbeit nicht untersucht werden, da in der retrospektiven, Krankenhausaufenthalts-bezogenen Dokumentation kein einheitliches, längeres Follow-Up möglich war. Die in vorherigen Studien beschriebenen Rückfallraten sind, wahrscheinlich auch aufgrund der niedrigen Fallzahlen, recht variabel. Für die Therapie mit Vancomycin werden im Vergleich zu Metronidazol etwas niedrigere Rückfall-Raten beschrieben (Alonso *et al.* 2012, Trifilio *et al.* 2012, Willems *et al.* 2012, Schalk *et al.* 2010, Gorschluter *et al.* 2001). Unter den genannten Studien fanden Alonso *et al.* die höchsten Raten von CDI-Rückfällen: Bei initialer Therapie mit Metronidazol trat in 23% der Fälle, bei Therapie mit Vancomycin oder einer Kombination aus beiden Wirkstoffen in 18% der Fälle ein Rückfall auf, wobei der Unterschied sich nicht als statistisch signifikant erwies (Alonso *et al.* 2012). In der Zusammenschau der bisherigen Untersuchungen ist offenbar die Rate von rekurrerender CDI bei AML- und allo SZT-Patienten gegenüber hospitalisierten Patienten allgemein nicht erhöht (DuPont 2011, Pepin *et al.* 2005). Ähnliches zeigte sich in einer Studie von Cornely *et al.*: Im Vergleich zwischen Patienten mit onkologischer und ohne onkologische Erkrankung ermittelten die Autoren unter Therapie mit Vancomycin oder Fidaxomicin bei ersteren zwar ein geringeres Ansprechen auf die Therapie sowie eine längere Zeitspanne bis zum Sistieren der Diarrhoen, jedoch ähnliche Raten von CDI-Rückfällen (Cornely *et al.* 2013).

Eine sichere Aussage zur Effektivität der spezifischen antibiotischen Therapie bei hämatologischen Hochrisikopatienten zu treffen, ist derzeit noch nicht möglich, da bislang keine randomisierten, kontrollierten Studien zur Evaluation dieser Therapie vorliegen. Derartige Untersuchungen können in Zukunft die Grundlage für neue oder modifizierte Therapieempfehlungen für diese spezielle Patientengruppe darstellen.

4 Zusammenfassung

Einleitung: Infektionen mit *C. difficile* gehören zu den häufigsten Ursachen für nosokomial erworbene Enterokolitis und Diarrhoe. Sie treten insbesondere in Folge einer Veränderung in der Zusammensetzung der Darmmikrobiota durch eine antibiotische Therapie auf. Im letzten Jahrzehnt scheint die Inzidenz von CDI in Europa und Nordamerika anzusteigen, dabei wird eine zunehmende Anzahl von Infektionen mit hypervirulenten *C. diff.*-Stämmen beobachtet. Schwer immunsupprimierte Patienten sind, durch das Vorhandensein verschiedener Risikofaktoren, einem besonders hohen Risiko für eine Erkrankung an CDI ausgesetzt. Hierzu zählen Patienten, die mittels allogener Stammzelltransplantation therapiert werden, ebenso wie an AML erkrankte Patienten, die eine intensive zytostatische Therapie erhalten.

Motivation der Fragestellung: Zum Auftreten von CDI bei hämatologischen Hochrisikopatienten liegen bislang nur begrenzte Untersuchungen vor. Insbesondere die Inzidenz von CDI und die mit der Erkrankung assoziierten Risikofaktoren werden in der Literatur bislang sehr unterschiedlich beschrieben. Gleiches gilt für einen möglichen Zusammenhang zwischen CDI und dem (im Zusammenhang mit der allo SZT relevanten) Krankheitsbild der GvHD. In der weiteren Untersuchung dieser Fragen liegt die Hauptmotivation der Arbeit.

Methodik: Die Datenerhebung erfolgte retrospektiv aus der Datenbank „Cologne Cohort of Neutropenic Patients“, mit Hilfe derer eine umfassende Dokumentation aller relevanten Patientendaten und klinischer Parameter erfolgte. Eingeschlossen wurden Patienten, die im Rahmen einer allo-SZT hospitalisiert waren und Patienten, die aufgrund einer AML stationär mit einem entsprechenden Chemotherapie-Protokoll behandelt wurden. Es wurde der Zeitraum von Januar 2007 bis August 2010 erfasst. Die Risikofaktoranalyse wurde mittels logistischer Regressionsanalyse durchgeführt ($P < 0.1$).

Ergebnisse: Es konnten 310 Aufenthalte von 153 AML-Patienten und 229 Aufenthalte von 223 allo SZT-Patienten analysiert werden. Die ermittelte Inzidenz von CDI betrug 17,9 pro 10.000 Patiententage für AML-Patienten und 27,4 für allo SZT-Patienten. In beiden Patientengruppen wurde eine Exposition gegenüber Carbapenemen als Risikofaktor für CDI ermittelt (OR 2,2 für AML- und 1,4 für allo SZT-Patienten). Eine CDI

im selben Aufenthalt wurde (u.a.) als Risikofaktor für das Auftreten von aGvHD ermittelt (odds ratio: 3.3).

Diskussion: Die hier ermittelte Inzidenz von CDI findet weitestgehende Übereinstimmung mit den Ergebnissen mehrerer vorheriger Studien und scheint damit, gegenüber der Inzidenz bei hospitalisierten Patienten insgesamt, deutlich erhöht zu sein. Der Einsatz von Carbapenem-Antibiotika als Risikofaktor konnte in diesem Zusammenhang erstmals ermittelt werden. Eine Störung in der Zusammensetzung der Darmmikrobiota nach Gabe von Breitspektrum-Antibiotika scheint hier eine wichtige Rolle zu spielen. Nach aktuellen Untersuchungen ergibt sich an dieser Stelle auch ein möglicher Zusammenhang mit dem erhöhten Risiko für eine aGvHD.

Schlussfolgerung/Ausblick: Strategien zum rationalen Einsatz von Antibiotika („antibiotic stewardship intervention“) mit dem Ziel eines begrenzten Einsatzes von Carbapenem-Antibiotika bei hämatologischen Hochrisikopatienten stellen einen möglichen Ansatzpunkt für künftige Untersuchungen dar. Der Effekt einer solchen Strategie auf das Auftreten von CDI könnte in einer folgenden Studie untersucht werden.

5 Literaturverzeichnis

- [1] Aksoy DY, Tanriover MD, Uzun O, Zarakolu P, Ercis S, Erguven S, Oto A, Kerimoglu U, Hayran M, Abbasoglu O (2007). *Diarrhea in neutropenic patients: a prospective cohort study with emphasis on neutropenic enterocolitis*. Ann Oncol 18(1): 183-9.
- [2] Al-Nassir WN, Sethi AK, Nerandzic MM, Bobulsky GS, Jump RL, Donskey CJ (2008). *Comparison of clinical and microbiological response to treatment of Clostridium difficile-associated disease with metronidazole and vancomycin*. Clin Infect Dis 47(1): 56-62.
- [3] Alonso CD, Treadway SB, Hanna DB, Huff CA, Neofytos D, Carroll KC, Marr KA (2012). *Epidemiology and outcomes of Clostridium difficile infections in hematopoietic stem cell transplant recipients*. Clin Infect Dis 54(8): 1053-63.
- [4] Aoudjhane M, Labopin M, Gorin NC, Shimoni A, Ruutu T, Kolb HJ, Frassoni F, Boiron JM, Yin JL, Finke J, Shouten H, Blaise D, Falda M, Fauser AA, Esteve J, Polge E, Slavin S, Niederwieser D, Nagler A, Rocha V, Acute Leukemia Working Party of the European group for B, Marrow T (2005). *Comparative outcome of reduced intensity and myeloablative conditioning regimen in HLA identical sibling allogeneic haematopoietic stem cell transplantation for patients older than 50 years of age with acute myeloblastic leukaemia: a retrospective survey from the Acute Leukemia Working Party (ALWP) of the European group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT)*. Leukemia 19(12): 2304-12.
- [5] Appelbaum FR (2001). *Haematopoietic cell transplantation as immunotherapy*. Nature 411(6835): 385-9.
- [6] Appelbaum FR (2010). *Hämatopoetische Stammzelltransplantation*. In: Dietel M, Suttrop N, Zeitz M (ed). *Harrisons Innere Medizin*, 18. Auflage, Band 1, Berlin: ABW Wissenschaftsverlag. p. 1030-6.
- [7] Aseeri M, Schroeder T, Kramer J, Zackula R (2008). *Gastric acid suppression by proton pump inhibitors as a risk factor for clostridium difficile-associated diarrhea in hospitalized patients*. Am J Gastroenterol 103(9): 2308-13.
- [8] Averbuch D, Orasch C, Cordonnier C, Livermore DM, Mikulska M, Viscoli C, Gyssens IC, Kern WV, Klyasova G, Marchetti O, Engelhard D, Akova M (2014). *European guidelines for empirical antibacterial therapy for febrile neutropenic patients in the era of growing resistance: summary of the 2011 4th European Conference on Infections in Leukemia*. Haematologica 98(12): 1826-35.
- [9] AWMF Arbeitskreis "Krankenhaus- und Praxishygiene" (2006). *AWMF Leitlinie: Hygienemaßnahmen bei Vorkommen von Clostridium difficile*. http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/029-040l_S1_Clostridium_difficile_Hygienemaßnahmen.pdf (Zuletzt abgerufen am 19.12.2015)
- [10] Bahrani-Mougeot FK, Scobey MW, Sansonetti PJ (2009). *Enteropathogenic Infections*. In: Schlaechter M (ed). *The Desk Encyclopedia of Microbiology*. p. 412-3.
- [11] Barbut F, Mastrantonio P, Delmee M, Brazier J, Kuijper E, Poxton I, European Study Group on Clostridium d (2007). *Prospective study of Clostridium difficile infections in Europe with phenotypic and genotypic characterisation of the isolates*. Clin Microbiol Infect 13(11): 1048-57.
- [12] Barbut F, Richard A, Hamadi K, Chomette V, Burghoffer B, Petit JC (2000). *Epidemiology of recurrences or reinfections of Clostridium difficile-associated diarrhea*. J Clin Microbiol 38(6): 2386-8.

- [13] Baron F, Labopin M, Niederwieser D, Vigouroux S, Cornelissen JJ, Malm C, Vindelov LL, Blaise D, Janssen JJ, Petersen E, Socie G, Nagler A, Rocha V, Mohty M (2012). *Impact of graft-versus-host disease after reduced-intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia: a report from the Acute Leukemia Working Party of the European group for blood and marrow transplantation*. *Leukemia* 26(12): 2462-8.
- [14] Bartlett JG (2006). *Narrative review: the new epidemic of Clostridium difficile-associated enteric disease*. *Ann Intern Med* 145(10): 758-64.
- [15] Bartlett JG, Chang TW, Gurwith M, Gorbach SL, Onderdonk AB (1978). *Antibiotic-associated pseudomembranous colitis due to toxin-producing clostridia*. *N Engl J Med* 298(10): 531-4.
- [16] Bauer MP, Kuijper EJ, van Dissel JT, European Society of Clinical M, Infectious D (2009). *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): treatment guidance document for Clostridium difficile infection (CDI)*. *Clin Microbiol Infect* 15(12): 1067-79.
- [17] Bauer MP, Notermans DW, van Benthem BH, Brazier JS, Wilcox MH, Rupnik M, Monnet DL, van Dissel JT, Kuijper EJ (2011). *Clostridium difficile infection in Europe: a hospital-based survey*. *Lancet* 377(9759): 63-73.
- [18] Baxter R, Ray GT, Fireman BH (2008). *Case-control study of antibiotic use and subsequent Clostridium difficile-associated diarrhea in hospitalized patients*. *Infect Control Hosp Epidemiol* 29(1): 44-50.
- [19] Bornhauser M, Kienast J, Trenscher R, Burchert A, Hegenbart U, Stadler M, Baurmann H, Schafer-Eckart K, Holler E, Kroger N, Schmid C, Einsele H, Kiehl MG, Hiddemann W, Schwerdtfeger R, Buchholz S, Dreger P, Neubauer A, Berdel WE, Ehninger G, Beelen DW, Schetelig J, Stelljes M (2012). *Reduced-intensity conditioning versus standard conditioning before allogeneic haemopoietic cell transplantation in patients with acute myeloid leukaemia in first complete remission: a prospective, open-label randomised phase 3 trial*. *Lancet Oncol* 13(10): 1035-44.
- [20] Buffie CG, Bucci V, Stein RR, McKenney PT, Ling L, Gouborne A, No D, Liu H, Kinnebrew M, Viale A, Littmann E, van den Brink MR, Jenq RR, Taur Y, Sander C, Cross JR, Toussaint NC, Xavier JB, Pamer EG (2015). *Precision microbiome reconstitution restores bile acid mediated resistance to Clostridium difficile*. *Nature* 517(7533): 205-8.
- [21] Burckhardt F, Friedrich A, Beier D, Eckmanns T (2008). *Clostridium difficile surveillance trends, Saxony, Germany*. *Emerg Infect Dis* 14(4): 691-2.
- [22] Burke KE, Lamont JT (2014). *Clostridium difficile infection: a worldwide disease*. *Gut Liver* 8(1): 1-6.
- [23] Buske C, Spiekermann K, Braess J, Hiddemann W (2009). *Akute myeloische Leukämie*. In: Hiddemann W, Bartram CR (ed). *Die Onkologie*, 2. Auflage, Teil 2, Heidelberg: Springer Verlag. p. 1637-71.
- [24] Chakrabarti S, Lees A, Jones SG, Milligan DW (2000). *Clostridium difficile infection in allogeneic stem cell transplant recipients is associated with severe graft-versus-host disease and non-relapse mortality*. *Bone Marrow Transplant* 26(8): 871-6.
- [25] Chopra T, Chandrasekar P, Salimnia H, Heilbrun LK, Smith D, Alangaden GJ (2011). *Recent epidemiology of Clostridium difficile infection during hematopoietic stem cell transplantation*. *Clin Transplant* 25(1): E82-7.
- [26] Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, Kelly CP, Loo VG, McDonald LC, Pepin J, Wilcox MH (2010). *Clinical practice guidelines for Clostridium difficile infection in adults: 2010 update by the society for healthcare epidemiology of America (SHEA) and the infectious diseases society of America (IDSA)*. *Infect Control Hosp Epidemiol* 31(5): 431-55.

- [27] Cornely OA, Crook DW, Esposito R, Poirier A, Somero MS, Weiss K, Sears P, Gorbach S (2012). *Fidaxomicin versus vancomycin for infection with Clostridium difficile in Europe, Canada, and the USA: a double-blind, non-inferiority, randomised controlled trial*. Lancet Infect Dis 12(4): 281-9.
- [28] Cornely OA, Miller MA, Fantin B, Mullane K, Kean Y, Gorbach S (2013). *Resolution of Clostridium difficile-associated diarrhea in patients with cancer treated with fidaxomicin or vancomycin*. J Clin Oncol 31(19): 2493-9.
- [29] Crobach MJ, Dekkers OM, Wilcox MH, Kuijper EJ (2009). *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): data review and recommendations for diagnosing Clostridium difficile-infection (CDI)*. Clin Microbiol Infect 15(12): 1053-66.
- [30] Debast SB, Bauer MP, Kuijper EJ (2014). *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the treatment guidance document for Clostridium difficile infection*. Clin Microbiol Infect 20 Suppl 2: 1-26.
- [31] Dethlefsen L, Huse S, Sogin ML, Relman DA (2008). *The pervasive effects of an antibiotic on the human gut microbiota, as revealed by deep 16S rRNA sequencing*. PLoS Biol 6(11): e280.
- [32] Dettenkofer M, Ebner W, Bertz H, Babikir R, Finke J, Frank U, Ruden H, Daschner FD (2003). *Surveillance of nosocomial infections in adult recipients of allogeneic and autologous bone marrow and peripheral blood stem-cell transplantation*. Bone Marrow Transplant 31(9): 795-801.
- [33] Devergie A (2008). *Graft versus Host Disease*. EBMT-ESH Handbook on Haemopoietic Stem Cell Transplantation.
http://www.ebmt.org/Contents/Resources/Library/EBMTESHhandbook/Documents/EBMT2008_Cap11.pdf
 (Zuletzt abgerufen am 19.12.2015)
- [34] Dial S, Alrasadi K, Manoukian C, Huang A, Menzies D (2004). *Risk of Clostridium difficile diarrhea among hospital inpatients prescribed proton pump inhibitors: cohort and case-control studies*. CMAJ 171(1): 33-8.
- [35] Dial S, Kezouh A, Dascal A, Barkun A, Suissa S (2008). *Patterns of antibiotic use and risk of hospital admission because of Clostridium difficile infection*. CMAJ 179(8): 767-72.
- [36] Dignan FL, Clark A, Amrolia P, Cornish J, Jackson G, Mahendra P, Scarisbrick JJ, Taylor PC, Hadzic N, Shaw BE, Potter MN (2012). *Diagnosis and management of acute graft-versus-host disease*. Br J Haematol 158(1): 30-45.
- [37] Dohner H, Estey EH, Amadori S, Appelbaum FR, Buchner T, Burnett AK, Dombret H, Fenaux P, Grimwade D, Larson RA, Lo-Coco F, Naoe T, Niederwieser D, Ossenkoppele GJ, Sanz MA, Sierra J, Tallman MS, Lowenberg B, Bloomfield CD (2010). *Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet*. Blood 115(3): 453-74.
- [38] Dubberke ER, Reske KA, Srivastava A, Sadhu J, Gatti R, Young RM, Rakes LC, Dieckgraefe B, DiPersio J, Fraser VJ (2010). *Clostridium difficile-associated disease in allogeneic hematopoietic stem-cell transplant recipients: risk associations, protective associations, and outcomes*. Clin Transplant 24(2): 192-8.
- [39] Dubberke ER, Reske KA, Yan Y, Olsen MA, McDonald LC, Fraser VJ (2007). *Clostridium difficile-associated disease in a setting of endemicity: identification of novel risk factors*. Clin Infect Dis 45(12): 1543-9.
- [40] DuPont HL (2011). *The search for effective treatment of Clostridium difficile infection*. N Engl J Med 364(5): 473-5.
- [41] Eyre DW, Cule ML, Wilson DJ, Griffiths D, Vaughan A, O'Connor L, Ip CL, Golubchik T, Batty EM, Finney JM, Wyllie DH, Didelot X, Piazza P, Bowden R, Dingle KE, Harding RM, Crook DW, Wilcox

- MH, Peto TE, Walker AS (2013). *Diverse sources of C. difficile infection identified on whole-genome sequencing*. N Engl J Med 369(13): 1195-205.
- [42] Feazel LM, Malhotra A, Perencevich EN, Kaboli P, Diekema DJ, Schweizer ML (2014). *Effect of antibiotic stewardship programmes on Clostridium difficile incidence: a systematic review and meta-analysis*. J Antimicrob Chemother 69(7): 1748-54.
- [43] Feinstein L, Storb R (2001). *Reducing transplant toxicity*. Curr Opin Hematol 8(6): 342-8.
- [44] Filipovich AH, Weisdorf D, Pavletic S, Socie G, Wingard JR, Lee SJ, Martin P, Chien J, Przepiorka D, Couriel D, Cowen EW, Dinndorf P, Farrell A, Hartzman R, Henslee-Downey J, Jacobsohn D, McDonald G, Mittleman B, Rizzo JD, Robinson M, Schubert M, Schultz K, Shulman H, Turner M, Vogelsang G, Flowers ME (2005). *National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report*. Biol Blood Marrow Transplant 11(12): 945-56.
- [45] Flowers ME, Inamoto Y, Carpenter PA, Lee SJ, Kiem HP, Petersdorf EW, Pereira SE, Nash RA, Mielcarek M, Fero ML, Warren EH, Sanders JE, Storb RF, Appelbaum FR, Storer BE, Martin PJ (2011). *Comparative analysis of risk factors for acute graft-versus-host disease and for chronic graft-versus-host disease according to National Institutes of Health consensus criteria*. Blood 117(11): 3214-9.
- [46] Fong KS, Fatica C, Hall G, Procop G, Schindler S, Gordon SM, Fraser TG (2011). *Impact of PCR testing for Clostridium difficile on incident rates and potential on public reporting: is the playing field level?* Infect Control Hosp Epidemiol 32(9): 932-3.
- [47] Gooley TA, Chien JW, Pergam SA, Hingorani S, Sorrow ML, Boeckh M, Martin PJ, Sandmaier BM, Marr KA, Appelbaum FR, Storb R, McDonald GB (2010). *Reduced mortality after allogeneic hematopoietic-cell transplantation*. N Engl J Med 363(22): 2091-101.
- [48] Gorschluter M, Glasmacher A, Hahn C, Schakowski F, Ziske C, Molitor E, Marklein G, Sauerbruch T, Schmidt-Wolf IG (2001). *Clostridium difficile infection in patients with neutropenia*. Clin Infect Dis 33(6): 786-91.
- [49] Gorschluter M, Marklein G, Hofling K, Clarenbach R, Baumgartner S, Hahn C, Ziske C, Mey U, Heller R, Eis-Hubinger AM, Sauerbruch T, Schmidt-Wolf IG, Glasmacher A (2002). *Abdominal infections in patients with acute leukaemia: a prospective study applying ultrasonography and microbiology*. Br J Haematol 117(2): 351-8.
- [50] Gratwohl A (2008). *Principles of Conditioning*. EBMT-ESH Handbook on Haemopoietic Stem Cell Transplantation.
http://www.ebmt.org/Contents/Resources/Library/EBMTESHhandbook/Documents/EBMT2008_Cap6.pdf
 (Zuletzt abgerufen am 19.12.2015)
- [51] Gratwohl A, Baldomero H, Aljurf M, Pasquini MC, Bouzas LF, Yoshimi A, Szer J, Lipton J, Schwendener A, Gratwohl M, Frauendorfer K, Niederwieser D, Horowitz M, Kodera Y, Worldwide Network of B, Marrow T (2010). *Hematopoietic stem cell transplantation: a global perspective*. JAMA 303(16): 1617-24.
- [52] Gupta V, Panzarella T, Li L, Khan J, Sharma A, Lipton JH, Kuruvilla J, Messner H, Alibhai SM (2012). *A prospective study comparing the outcomes and health-related quality of life in adult patients with myeloid malignancies undergoing allogeneic transplantation using myeloablative or reduced-intensity conditioning*. Biol Blood Marrow Transplant 18(1): 113-24.
- [53] Hall IC, O'Toole E (1935). *Intestinal flora in newborn infants with description of new pathogenic anaerobe*. Am J Dis Child 49: 390-402.
- [54] Hiddemann W, Maschmeyer G, Link H, Helmerking M, Adam D (1997). *Therapy of infections in patients with acute leukemia*. Med Klin (Munich) 92(7): 406-9.

- [55] Holler E, Butzhammer P, Schmid K, Hundsrucker C, Koestler J, Peter K, Zhu W, Sporrer D, Hehlhans T, Kreutz M, Holler B, Wolff D, Edinger M, Andreesen R, Levine JE, Ferrara JL, Gessner A, Spang R, Oefner PJ (2014). *Metagenomic analysis of the stool microbiome in patients receiving allogeneic stem cell transplantation: loss of diversity is associated with use of systemic antibiotics and more pronounced in gastrointestinal graft-versus-host disease*. Biol Blood Marrow Transplant 20(5): 640-5.
- [56] Jenq RR, Ubeda C, Taur Y, Menezes CC, Khanin R, Dudakov JA, Liu C, West ML, Singer NV, Equinda MJ, Gobourne A, Lipuma L, Young LF, Smith OM, Ghosh A, Hanash AM, Goldberg JD, Aoyama K, Blazar BR, Pamer EG, van den Brink MR (2012). *Regulation of intestinal inflammation by microbiota following allogeneic bone marrow transplantation*. J Exp Med 209(5): 903-11.
- [57] Jia JS, Huang XJ, Liu DH, Xiu LP, Zhang YC, Wu T, Wang JB, Su H, Lu QY, Lu DP (2008). *[Relationship between Clostridium difficile associated diarrhea and intestinal microecosystem disorder in patients received allogeneic hematopoietic stem cell transplantation]*. Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi 16(1): 135-9.
- [58] Kaltsas A, Simon M, Unruh LH, Son C, Wroblewski D, Musser KA, Sepkowitz K, Babady NE, Kamboj M (2012). *Clinical and laboratory characteristics of Clostridium difficile infection in patients with discordant diagnostic test results*. J Clin Microbiol 50(4): 1303-7.
- [59] Kamboj M, Son C, Cantu S, Chemaly RF, Dickman J, Dubberke E, Engles L, Lafferty T, Liddell G, Lesperance ME, Mangino JE, Martin S, Mayfield J, Mehta SA, O'Rourke S, Perego CS, Taplitz R, Eagan J, Sepkowitz KA (2012). *Hospital-onset Clostridium difficile infection rates in persons with cancer or hematopoietic stem cell transplant: a C3IC network report*. Infect Control Hosp Epidemiol 33(11): 1162-5.
- [60] Kanda J, Lopez RD, Rizzieri DA (2011). *Alemtuzumab for the prevention and treatment of graft-versus-host disease*. Int J Hematol 93(5): 586-93.
- [61] Kelly CP, LaMont JT (2008). *Clostridium difficile--more difficult than ever*. N Engl J Med 359(18): 1932-40.
- [62] Khanna S, Pardi DS, Aronson SL, Kammer PP, Orenstein R, St Sauver JL, Harmsen WS, Zinsmeister AR (2012). *The epidemiology of community-acquired Clostridium difficile infection: a population-based study*. Am J Gastroenterol 107(1): 89-95.
- [63] Kolb HJ (2008). *Graft-versus-leukemia effects of transplantation and donor lymphocytes*. Blood 112(12): 4371-83.
- [64] Kruger WH, Bohlius J, Cornely OA, Einsele H, Hebart H, Massenkeil G, Schuttrumpf S, Silling G, Ullmann AJ, Waldschmidt DT, Wolf HH (2005). *Antimicrobial prophylaxis in allogeneic bone marrow transplantation. Guidelines of the infectious diseases working party (AGIHO) of the german society of haematology and oncology*. Ann Oncol 16(8): 1381-90.
- [65] Kuijper EJ, Coignard B, Tull P (2006). *Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe*. Clin Microbiol Infect 12 Suppl 6: 2-18.
- [66] Kuijper EJ, van Dissel JT, Wilcox MH (2007). *Clostridium difficile: changing epidemiology and new treatment options*. Curr Opin Infect Dis 20(4): 376-83.
- [67] Kyne L, Sougioultzis S, McFarland LV, Kelly CP (2002). *Underlying disease severity as a major risk factor for nosocomial Clostridium difficile diarrhea*. Infect Control Hosp Epidemiol 23(11): 653-9.
- [68] LaMont JT (2012). *Clinical manifestations and diagnosis of Clostridium difficile infection*. http://www.uptodate.com/contents/clostridium-difficile-in-adults-clinical-manifestations-and-diagnosis?source=search_result&search=J.T.+LaMont%3B+Clinical+manifestations+and+diagnosis+of+Clostridium+difficile+infection&selectedTitle=1~150 (Zuletzt abgerufen am 19.12.2015)

- [69] Leisenring WM, Martin PJ, Petersdorf EW, Regan AE, Aboulhosn N, Stern JM, Aker SN, Salazar RC, McDonald GB (2006). *An acute graft-versus-host disease activity index to predict survival after hematopoietic cell transplantation with myeloablative conditioning regimens*. Blood 108(2): 749-55.
- [70] Lekakis L, de Lima M (2008). *Reduced-intensity conditioning and allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia*. Expert Rev Anticancer Ther 8(5): 785-98.
- [71] Leung S, Metzger BS, Currie BP (2010). *Incidence of Clostridium difficile infection in patients with acute leukemia and lymphoma after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation*. Infect Control Hosp Epidemiol 31(3): 313-5.
- [72] Link H, Bohme A, Cornely OA, Hoffken K, Kellner O, Kern WV, Mahlberg R, Maschmeyer G, Nowrousian MR, Ostermann H, Ruhnke M, Sezer O, Schiel X, Wilhelm M, Auner HW (2003). *Antimicrobial therapy of unexplained fever in neutropenic patients--guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Oncology (DGHO), Study Group Interventional Therapy of Unexplained Fever, Arbeitsgemeinschaft Supportivmassnahmen in der Onkologie (ASO) of the Deutsche Krebsgesellschaft (DKG-German Cancer Society)*. Ann Hematol 82 Suppl 2: S105-17.
- [73] Lo Vecchio A, Zacur GM (2012). *Clostridium difficile infection: an update on epidemiology, risk factors, and therapeutic options*. Curr Opin Gastroenterol 28(1): 1-9.
- [74] Loo VG, Bourgault AM, Poirier L, Lamothe F, Michaud S, Turgeon N, Tuye B, Beaudoin A, Frost EH, Gilca R, Brassard P, Dendukuri N, Beliveau C, Oughton M, Brukner I, Dascal A (2011). *Host and pathogen factors for Clostridium difficile infection and colonization*. N Engl J Med 365(18): 1693-703.
- [75] Loo VG, Poirier L, Miller MA, Oughton M, Libman MD, Michaud S, Bourgault AM, Nguyen T, Frenette C, Kelly M, Vibien A, Brassard P, Fenn S, Dewar K, Hudson TJ, Horn R, Rene P, Monczak Y, Dascal A (2005). *A predominantly clonal multi-institutional outbreak of Clostridium difficile-associated diarrhea with high morbidity and mortality*. N Engl J Med 353(23): 2442-9.
- [76] Louie TJ, Miller MA, Mullane KM, Weiss K, Lentnek A, Golan Y, Gorbach S, Sears P, Shue YK (2011). *Fidaxomicin versus vancomycin for Clostridium difficile infection*. N Engl J Med 364(5): 422-31.
- [77] Martin PJ, Inamoto Y, Flowers ME, Carpenter PA (2012). *Secondary treatment of acute graft-versus-host disease: a critical review*. Biol Blood Marrow Transplant 18(7): 982-8.
- [78] McDonald LC, Owings M, Jernigan DB (2006). *Clostridium difficile infection in patients discharged from US short-stay hospitals, 1996-2003*. Emerg Infect Dis 12(3): 409-15.
- [79] Merrigan M, Sambol S, Johnson S, Gerding DN (2003a). *Susceptibility of hamsters to human pathogenic Clostridium difficile strain B1 following clindamycin, ampicillin or ceftriaxone administration*. Anaerobe 9(2): 91-5.
- [80] Merrigan M, Venugopal A, Mallozzi M, Roxas B, Viswanathan VK, Johnson S, Gerding DN, Vedantam G (2010). *Human hypervirulent Clostridium difficile strains exhibit increased sporulation as well as robust toxin production*. J Bacteriol 192(19): 4904-11.
- [81] Merrigan MM, Sambol SP, Johnson S, Gerding DN (2003b). *Prevention of fatal Clostridium difficile-associated disease during continuous administration of clindamycin in hamsters*. J Infect Dis 188(12): 1922-7.
- [82] Mickelson EM, Petersdorf EW, Hansen JA (2002). *HLA matching and hematopoietic cell transplant outcome*. Clin Transpl: 263-71.
- [83] Mock M, Halfmann A, Hermann M, von Müller L (2013). *Aktuelles zur Epidemiologie von Clostridium difficile - Bericht aus dem Konsiliarlabor C. difficile*. Epidemiologisches Bulletin 26/2013, Robert Koch-Institut. p. 241-244.

- [84] Müller-Hermelink HK, Papadopoulos T (2009). *Einteilung und Klassifikation maligner Erkrankungen*. In: Hiddemann W, Bartran C (ed). Die Onkologie, 2. Auflage, Teil 1, Heidelberg: Springer Verlag. p. 18-25.
- [85] Neumann S, Krause SW, Maschmeyer G, Schiel X, von Lilienfeld-Toal M (2013). *Primary prophylaxis of bacterial infections and Pneumocystis jirovecii pneumonia in patients with hematological malignancies and solid tumors : guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Oncology (DGHO)*. Ann Hematol 92(4): 433-42.
- [86] Passweg JR, Baldomero H, Gratwohl A, Bregni M, Cesaro S, Dreger P, de Witte T, Farge-Bancel D, Gaspar B, Marsh J, Mohty M, Peters C, Tichelli A, Velardi A, de Elvira CR, Falkenburg F, Sureda A, Madrigal A, European Group for B, Marrow T (2012). *The EBMT activity survey: 1990-2010*. Bone Marrow Transplant 47(7): 906-23.
- [87] Paul M, Yahav D, Fraser A, Leibovici L (2006). *Empirical antibiotic monotherapy for febrile neutropenia: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials*. J Antimicrob Chemother 57(2): 176-89.
- [88] Pepin J, Alary ME, Valiquette L, Raiche E, Ruel J, Fulop K, Godin D, Bourassa C (2005). *Increasing risk of relapse after treatment of Clostridium difficile colitis in Quebec, Canada*. Clin Infect Dis 40(11): 1591-7.
- [89] Poutsiaka DD, Munson D, Price LL, Chan GW, Snyderman DR (2011). *Blood stream infection (BSI) and acute GVHD after hematopoietic SCT (HSCT) are associated*. Bone Marrow Transplant 46(2): 300-7.
- [90] Rank A, Kolb HJ (2007). *Stammzelltransplantation*. In: Possinger K, Regierer AC (ed). Facharzt Hämatologie Onkologie, 1. Auflage, München: Urban und Fischer Verlag. p. 183-208.
- [91] Ratanatharathorn V, Ayash L, Lazarus HM, Fu J, Uberti JP (2001). *Chronic graft-versus-host disease: clinical manifestation and therapy*. Bone Marrow Transplant 28(2): 121-9.
- [92] Robert-Koch-Institut (2011). *Clostridium difficile - RKI Ratgeber für Ärzte*. http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Clostridium.html (Zuletzt abgerufen am 19.12.2015)
- [93] Ruggeri L, Capanni M, Casucci M, Volpi I, Tosti A, Perruccio K, Urbani E, Negrin RS, Martelli MF, Velardi A (1999). *Role of natural killer cell alloreactivity in HLA-mismatched hematopoietic stem cell transplantation*. Blood 94(1): 333-9.
- [94] Ruhnke M (2012). *Infektionen bei Patienten mit hämatologisch-onkologischen Erkrankungen*. In: Possinger K, Regierer AC (ed). Facharzt Hämatologie Onkologie, 1. Auflage, München: Urban und Fischer Verlag. p. 207-35.
- [95] Rupnik M, Wilcox MH, Gerding DN (2009). *Clostridium difficile infection: new developments in epidemiology and pathogenesis*. Nat Rev Microbiol 7(7): 526-36.
- [96] Sandherr M, Hentrich M, von Lilienfeld-Toal M, Massenkeil G, Neumann S, Penack O, Biehl L, Cornely OA (2015). *Antiviral prophylaxis in patients with solid tumours and haematological malignancies-update of the Guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society for Hematology and Medical Oncology (DGHO)*. Ann Hematol.
- [97] Schaich M, Ehninger G (2012). *Individualisierte Therapie der akuten myeloischen Leukämie*. Der Onkologe 18(12): 1084-92.
- [98] Schalk E, Bohr UR, König B, Scheinplflug K, Mohren M (2010). *Clostridium difficile-associated diarrhoea, a frequent complication in patients with acute myeloid leukaemia*. Ann Hematol 89(1): 9-14.

- [99] Schaumann R, Rodloff A (2009). *Clostridium Spp.* In: Neumeister B, Geiss HK, Braun RW, Kimming P (ed). *Mikrobiologische Diagnostik*, 2. Auflage, Stuttgart: Thieme Verlag, 2, p. 546-7.
- [100] Scheffold C, Berndel WE, Kienast J (2009). *Hochdosistherapie und Stammzelltransplantation.* In: Hiddemann W, Bartram CR (ed). *Die Onkologie*, 2. Auflage, Teil 1, Heidelberg: Springer Verlag. p. 541-62.
- [101] Seekatz AM, Young VB (2014). *Clostridium difficile and the microbiota.* J Clin Invest 124(10): 4182-9.
- [102] Silva J, Jr., Batts DH, Fekety R, Plouffe JF, Rifkin GD, Baird I (1981). *Treatment of Clostridium difficile colitis and diarrhea with vancomycin.* Am J Med 71(5): 815-22.
- [103] Slimings C, Riley TV (2014). *Antibiotics and hospital-acquired Clostridium difficile infection: update of systematic review and meta-analysis.* J Antimicrob Chemother 69(4): 881-91.
- [104] Surawicz CM, Brandt LJ, Binion DG, Ananthakrishnan AN, Curry SR, Gilligan PH, McFarland LV, Mellow M, Zuckerbraun BS (2013). *Guidelines for Diagnosis, Treatment, and Prevention of Clostridium difficile Infections.* Am J Gastroenterol.
- [105] Tacke D, Buchheidt D, Karthaus M, Krause SW, Maschmeyer G, Neumann S, Ostermann H, Penack O, Rieger C, Ruhnke M, Sandherr M, Schweer KE, Ullmann AJ, Cornely OA (2014). *Primary prophylaxis of invasive fungal infections in patients with haematologic malignancies. 2014 update of the recommendations of the Infectious Diseases Working Party of the German Society for Haematology and Oncology.* Ann Hematol 93(9): 1449-56.
- [106] Taur Y, Jenq RR, Perales MA, Littmann ER, Morjaria S, Ling L, No D, Gobourne A, Viale A, Dahi PB, Ponce DM, Barker JN, Giral S, van den Brink M, Pamer EG (2014). *The effects of intestinal tract bacterial diversity on mortality following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.* Blood 124(7): 1174-82.
- [107] Taur Y, Xavier JB, Lipuma L, Ubeda C, Goldberg J, Gobourne A, Lee YJ, Dubin KA, Socci ND, Viale A, Perales MA, Jenq RR, van den Brink MR, Pamer EG (2012). *Intestinal domination and the risk of bacteremia in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.* Clin Infect Dis 55(7): 905-14.
- [108] Teasley DG, Gerding DN, Olson MM, Peterson LR, Gebhard RL, Schwartz MJ, Lee JT, Jr. (1983). *Prospective randomised trial of metronidazole versus vancomycin for Clostridium-difficile-associated diarrhoea and colitis.* Lancet 2(8358): 1043-6.
- [109] Theurich S, Fischmann H, Shimabukuro-Vornhagen A, Chemnitz JM, Holtick U, Scheid C, Skoetz N, von Bergwelt-Baildon M (2012). *Polyclonal anti-thymocyte globulins for the prophylaxis of graft-versus-host disease after allogeneic stem cell or bone marrow transplantation in adults.* Cochrane Database Syst Rev 9: CD009159.
- [110] Trifilio SM, Pi J, Mehta J (2012). *Changing Epidemiology of Clostridium difficile-Associated Disease during Stem Cell Transplantation.* Biol Blood Marrow Transplant.
- [111] Tunccan OG, Ulutan F, Karakus R (2008). *[The frequency of Clostridium difficile toxin in neutropenic and non-neutropenic patients with antibiotic-associated diarrhea and analysis of the risk factors].* Mikrobiyol Bul 42(4): 573-83.
- [112] Ubeda C, Taur Y, Jenq RR, Equinda MJ, Son T, Samstein M, Viale A, Socci ND, van den Brink MR, Kamboj M, Pamer EG (2010). *Vancomycin-resistant Enterococcus domination of intestinal microbiota is enabled by antibiotic treatment in mice and precedes bloodstream invasion in humans.* J Clin Invest 120(12): 4332-41.
- [113] van Kraaij MG, Dekker AW, Verdonck LF, van Loon AM, Vinje J, Koopmans MP, Rozenberg-Arska M (2000). *Infectious gastro-enteritis: an uncommon cause of diarrhoea in adult allogeneic and autologous stem cell transplant recipients.* Bone Marrow Transplant 26(3): 299-303.

- [114] van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, Fuentes S, Zoetendal EG, de Vos WM, Visser CE, Kuijper EJ, Bartelsman JF, Tijssen JG, Speelman P, Dijkgraaf MG, Keller JJ (2013). *Duodenal infusion of donor feces for recurrent Clostridium difficile*. N Engl J Med 368(5): 407-15.
- [115] Vehreschild MJ, Vehreschild JJ, Hubel K, Hentrich M, Schmidt-Hieber M, Christopeit M, Maschmeyer G, Schalk E, Cornely OA, Neumann S (2013). *Diagnosis and management of gastrointestinal complications in adult cancer patients: evidence-based guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Oncology (DGHO)*. Ann Oncol 24(5): 1189-202.
- [116] Vento S, Cainelli F (2003). *Infections in patients with cancer undergoing chemotherapy: aetiology, prevention, and treatment*. Lancet Oncol 4(10): 595-604.
- [117] Verity P, Wilcox MH, Fawley W, Parnell P (2001). *Prospective evaluation of environmental contamination by Clostridium difficile in isolation side rooms*. J Hosp Infect 49(3): 204-9.
- [118] Warny M, Pepin J, Fang A, Killgore G, Thompson A, Brazier J, Frost E, McDonald LC (2005). *Toxin production by an emerging strain of Clostridium difficile associated with outbreaks of severe disease in North America and Europe*. Lancet 366(9491): 1079-84.
- [119] Weinke T, Liesenfeld O (2008). *Antibiotika-assoziierte Diarrhö*. In: Marre R, Mertens T, Trautmann M, Zimmerli W (ed). *Klinische Infektiologie*, 2. Auflage, München: Urban und Fischer Verlag. p. 459-61.
- [120] Westin JR, Saliba RM, De Lima M, Alousi A, Hosing C, Qazilbash MH, Khouri IF, Shpall EJ, Anderlini P, Rondon G, Andersson BS, Champlin R, Couriel DR (2011). *Steroid-Refractory Acute GVHD: Predictors and Outcomes*. Adv Hematol 2011: 601953.
- [121] Willems L, Porcher R, Lafaurie M, Casin I, Robin M, Xhaard A, Andreoli AL, Rodriguez-Otero P, Dhedin N, Socie G, Ribaud P, Peffault de Latour R (2012). *Clostridium difficile infection after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: incidence, risk factors, and outcome*. Biol Blood Marrow Transplant 18(8): 1295-301.
- [122] Williams KM, Gress RE (2008). *Immune reconstitution and implications for immunotherapy following haematopoietic stem cell transplantation*. Best Pract Res Clin Haematol 21(3): 579-96.
- [123] Wojnar J, Giebel S, Holowiecka-Goral A, Krawczyk-Kulis M, Markiewicz M, Wozniczka K, Holowiecki J (2006). *The incidence and risk factors for chronic graft-versus-host-disease*. Ann Transplant 11(2): 14-20; discussion 32-43.
- [124] Zhou FF, Wu S, Klena JD, Huang HH (2014). *Clinical characteristics of Clostridium difficile infection in hospitalized patients with antibiotic-associated diarrhea in a university hospital in China*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 33(10): 1773-9.

6 Anhang

6.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Quartals-Inzidenz von CDI pro 100.000 Einwohner in Sachsen, Deutschland, 2002-2008. (Burckhardt *et al.* 2008).....4

Abbildung 2: Effekt von Antibiotika auf die normale Darmflora und Risiko für CDI. (Rupnik *et al.* 2009).....35

7 Lebenslauf

David Weitershagen

*16. August 1984 in Rheinbach

ledig, keine Kinder

römisch-katholisch

Subbelratherstr. 111

50823 Köln

Tel.: 0173 - 2039170

E-Mail: davidweitershagen@gmail.com

Ärztliche Tätigkeit

02/2013 bis 10/2013 Assistenzarzt-Tätigkeit im Fachbereich Allgemeinmedizin, spezielle Schmerztherapie und Palliativmedizin, Dres. Schwannecke und Weitershagen, Euskirchen

Seit 11/2013 Assistenzarzt in der Weiterbildung im Fachbereich Pädiatrie, Kinderklinik, Krankenhaus Porz am Rhein, Köln

Praktische Tätigkeiten und außeruniversitäre Aktivitäten

2010-2014 Datenerhebung und Ausarbeitung im Zuge der vorliegenden Dissertation

2010 1-jährige Tätigkeit als Studentische Hilfskraft am Klinischen Studienzentrum II für Infektiologie der Universität zu Köln

2010 Tätigkeit als studentischer Tutor an der Kinderklinik, Uniklinik Köln, Betreuung von Studierenden im Blockpraktikum Pädiatrie

2009-2011 2-jährige Tätigkeit als studentischer Tutor an der Klinik für Psychosomatik und Psychotherapie, Leitung eines Studierenden-Seminars zum Thema „Bio-Psycho-Soziale-Medizin“ / „Anamneseerhebung und ärztliche Gesprächsführung“

2006-2009 Tätigkeit als studentischer Mitarbeiter im Schlaflabor und in der Schlafambulanz der

Lebenslauf

Lungenklinik, Köln-Merheim

- 2008 1-monatige Famulatur in der Abteilung für Kardiologie des Auguste-Viktoria-Klinikums Berlin
- 2009 1-monatige Famulatur in der Notfallambulanz des Klinikums Neukölln, Berlin
- 2010 2-wöchige Famulatur im Kinderkrankenhaus Amsterdamer Straße, Köln
- 2011 6-wöchige Famulatur in der Kinderklinik, Uniklinik Köln

Hochschulausbildung

- 2005-2012 Studium der Humanmedizin an der Universität zu Köln
- 2011 Auslandssemester in Santander, Spanien
- Dezember 2012 Abschluss des zweiten Abschnitts der ärztlichen Prüfung
- 2011-2012 Praktisches Jahr:
1.Tertial: Pädiatrie, Krankenhaus Porz am Rhein
2.Tertial: Chirurgie, Uniklinik Köln/Karapitiya Teaching Hospital, Galle, Sri Lanka
3.Tertial: Innere Medizin, St. Franziskus-Hospital, Köln

Schulausbildung

- 1995-2004 Besuch des Emil-Fischer-Gymnasiums, Euskirchen
- Mai 2004 Abschluss mit der allgemeinen Hochschulreife (Durchschnittsnote: 1,5)

Sprachkenntnisse

- Englisch fließend in Wort und Schrift
- Französisch fließend in Wort und Schrift
- Spanisch Grundkenntnisse in Wort und Schrift