

Thema MRSA

Staphylococcusneusdragerschap bij huisartsen in Nederland

M.I.A. Rijnders, S. Nys, C. Driessen, C.J.P.A. Hoebe, R.M. Hopstaken, G.J. Oudhuis, A.Timmermans, E.E. Stobberingh

Staphylococcus aureus is een commensale bacterie die voorkomt op de huid en de slijmvliezen, met name van de neus. De bacterie is bij ongeveer 25% van de gezonde mensen altijd aanwezig, bij 50% soms wel soms niet en bij 25% nooit. Derhalve kunnen we een onderscheid maken in dragers, intermitterende dragers en niet-dragers. (1)

De commensale bacterieflora van zowel patiënten als gezonde personen vormen een belangrijk reservoir van antibioticaresistente bacteriën en resistente genen die overgedragen kunnen worden naar antibioticagevoelige, potentieel pathogene micro-organismen. (2)

Antibioticagebruik wordt algemeen beschouwd als de belangrijkste risicofactor voor de selectie en verspreiding van antibioticaresistente micro-organismen. Ongeveer 80% van het humane antibioticagebruik wordt in de huisartsenpraktijk voorgeschreven, het merendeel voor luchtweginfecties. (3) Dit antibioticagebruik zal leiden tot selectie van antibioticaresistente luchtwegpathogenen, inclusief *S. aureus*, de verwekker van ernstige pneumonien na influenza. (4) Daarnaast is *S. aureus* de meest voorkomende verwekker van huidinfecties. (5)

De rol van de gezondheidswerker als 'tussenpersoon' in gezondheidszorginstellingen voor het overdragen van bacteriën van de ene naar de andere patiënt, is recent door Albrich beschreven. (6) Van de 100 onderzochte studies was er bij ongeveer 25% duidelijk sprake van overdracht van meticillineresistente *S. aureus* (MRSA) van gezondheidswerker naar patiënt. Bij de overige studies was er of geen of mogelijk sprake van overdracht.

Huisartsen kunnen gekoloniseerd raken met antibioticaresistente bacteriën en deze vervolgens verspreiden naar andere patiënten. Echter de rol van huisartsen als potentiële bron voor de verspreiding van antibioticaresistente bacteriën is nog nauwelijks onderzocht. (7) Of huisartsen kunnen fungeren als bron van antibioticaresistente bacteriën vraagt onder andere inzicht in de prevalentie van antibioticaresistente commensale bacteriën bij huisartsen.

Deze studie werd uitgevoerd om de prevalentie van *S.aureus*-neusdragerschap onder huisartsen in Nederland te onderzoeken en daarnaast de antibioticagevoeligheid en de genetische achtergrond van de isolaten.

Methode

Tijdens het jaarlijkse congres van het Nederlands Huisartsen Genootschap (NHG) in 2006 werden van deelnemende huisartsen neuswatten afgenomen.

Isolatie van *S. aureus*

Voor de isolatie van *S. aureus* werden de watten geënt op CNA-platen (colistine-nalidixinezuur agarplaten, Becton Dickinson Diagnostics, Breda) en geïncubeerd in Nutrient Broth no.2 (Oxoid) met 6.5% NaCl. Na overnachting incubatie werd de broth uitgestreken op ORSA-platen (oxacillineresistent screening agar, OXOID). Kolonies op de CNA- en ORSO-platen verdacht voor *S. aureus* werden getest op aanwezigheid van coagulase en katalase. (8)

Bepaling antibioticagevoeligheid

Voor de antibioticagevoeligheidsbepaling werd een kwantitatieve methode in microtiterplaten gebruikt. De microtiterplaten met verschillende concentraties gevriesdroogde antibiotica werden geleverd door MCS Diagnostics BV, Swalmen, Nederland. De volgende antibiotica (concentratie reeks in mg/L) werden getest: cefaclor (0.06-128), cefuroxime (0.06-128), clindamycine (0.03-64), ciprofloxacin (0.128-32), clarithromycine (0.03-64), gentamicine (0.06-64), imipenem (0.03-64), linezolid (0.03-64), meropenem (0.06-64), moxifloxacin (0.12-4), oxacilline (0.03-64), penicilline (0.004-8), rifampicin (0.008-16), teicoplanin (0.06-128), tetracycline (0.03-64) trimethoprim-sulfamethoxazole (0.015-32) and vancomycine (0.06-128). Voor de interpretatie van de resultaten werden de EUCAST-criteria gehanteerd. (<http://www.eucast.org>)

De gevoeligheid voor fusidinezuur (100 µg) en mupirocin (10 µg); Neosensitabs, (Rosco, Denemarken) werden als discdiffusie bepaald op Mueller-Hintonagarplaten (Becton Dickinson Diagnostics, Breda). Voor de gevoelig/resistentie breekpunten werden de criteria volgens de BSAC gehanteerd (9,10). Alle clarithromycineresistente en clindamycinegevoelige isolaten werden getest op induceerbare clindamycineresistentie met de D-test. (11)

Bepaling van de genetische achtergrond van *S. aureus*

De genetische achtergrond van *S. aureus* werd bepaald met behulp van *Spa*-typering zoals eerder beschreven. (12) De verschillende spatypen werden vervolgens geclusterd tot *Spa*-clonale complexen met behulp van het BURP (based upon repeat pattern)-algoritme en de Ridom Staphtype software- versie 1.5 (<http://www.ridom.de/staphtype/>). Uit de *spa*-typering in combinatie met BURP werd het MLST (Multi Locus Sequence Type) afgeleid.

Statistische analyse

Uitgaande van een percentage van ongeveer 30 (variërend tussen 25% en 35%) *S. aureus*-dragerschap bij gezonde personen, zijn er 323 personen nodig om aan te tonen (met een $\alpha=0.05$ en een $\beta=0.80$) dat het dragerschap onder huisartsen niet verschilde met dat van de open populatie. Voor de statistische analyse werd SPSS-versie 16.0 gebruikt.

Resultaten

Bij 395 van de 1200 deelnemende huisartsen (= 32%) konden we een neuswat afnemen. *S. aureus* werd bij 129 (33%) aangetoond (95% b.i. 28%-37%). Resistentie tegen de geteste antibiotica werd alleen gevonden voor penicilline (71%), fusidinezuur (7%), clarithromycine (6%), clindamycine (0.6%) en tetracycline(2%). Voor de andere geteste antibiotica waren alle geïsoleerde *S. aureus*-isolaten gevoelig.

In totaal werden 74 verschillende *Spa*-types onderscheiden, die geclusterd worden in 14 *Spa*-CCs. De meest voorkomende *Spa*-CC was *Spa*-CC012 die bij 17% van de isolaten voorkwam en geassocieerd is met MLST-CC30, gevolgd door *Spa*-CC015 (MLST CC45) met 13%. De prevalentie van de overige *Spa*-CCs was 10% of lager. Het merendeel van de isolaten n=97 (72%) (95% b.i. 67%-87%) had een genetische achtergrond die MRSA gerelateerd is, zoals CC1, CC5, CC8, CC22, CC30 CC45, Cc509 en CC398 (tabel 1).

Discussie

Op basis van de bevindingen uit deze studie kunnen we concluderen dat huisartsen geen belangrijk reservoir vormen van antibioticaresistente *S. aureus*. Immers zowel de prevalentie van *S. aureus*-neusdragerschap (33%) als de resistentie tegen de geteste antibiotica was vergelijkbaar met die van gezonde personen. De

7% resistentie van *S. aureus* tegen fusidinezuur bij huisartsen is in Nederland nog niet eerder beschreven. Mogelijk dat huisartsen door contact met de patiënt met deze isolaten gekoloniseerd raken. Een eerdere studie, uitgevoerd bij patiënten van de polikliniek dermatologie van een universitair ziekenhuis, liet een toename zien in fusidinezuurresistentie van 9.7% tot 23.4 % over een periode van 6 jaar, tot 2001. De auteurs adviseerden dan ook om het topicale gebruik van fusidinezuur te beperken. (13) Het relatief hoge percentage *S. aureus*-isolaten met een MRSA-gerelateerde achtergrond suggereert dat huisartsen in de toekomst een potentieel risico hebben om MRSA-drager te worden. (14,15) Immers, gebleken is dat het Staphylococcal Cassette Chromosoom (SCC)mecgen zich het beste kan handhaven in *S. aureus*-isolaten met een MRSA-gerelateerde achtergrond.

De onderzochte huisartsenpopulatie (n=395) was voldoende groot om een statistisch verantwoorde uitspraak te doen. Helaas waren er geen demografische gegevens van de studiepopulatie bekend. Echter, het willekeurige karakter van de bemonstering tijdens het NHG-congres, maakt het niet waarschijnlijk dat er een bias is opgetreden tussen degene die wel en die niet bemonsterd zijn. Mogelijk is er wel een bias tussen huisartsen die het NHG-congres wel en niet bezoeken, maar het is niet te verwachten dat deze bias invloed heeft op het dragerschap van *S. aureus*.

De prevalentie van *S.aureus*-dragerschap bij gezondheidswerkers is recent door Albrich geanalyseerd.(6) Het dragerschap varieerde van 0%-40%, met een mediaan van 24%. De verschillende studies die geanalyseerd waren betroffen allen gezondheidscentra. Studies naar dragerschap onder huisartsen zijn nauwelijks verricht. De enige studie onder huisartsen is verricht in West-lerland. (7) De prevalentie van MRSA onder de onderzochte huisartsen (7.7%) was vergelijkbaar met die onder ziekenhuispersoneel (6.6%), maar lager dan die van de open populatie. (7) De lage prevalentie van MRSA in Nederland geldt zowel voor de gezonde open populatie als voor ziekenhuispersoneel (1%-2%). (12) De afwezigheid van MRSA in de door ons onderzochte huisartsenpopulatie is overeenkomstig de lage prevalentie van MRSA in Nederland. (16,17)

Resistentie tegen fusidinezuur werd tot 2002 in Nederlandse huisartsenpraktijken nauwelijks waargenomen. (18) Mede door de afwezigheid van resistentie tegen dit middel staat fusidinezuur in de standaard van het NHG vermeld als middel van keus voor de lokale behandeling van oppervlakkige huidinfecties zoals impetigo. (19) De 7% resistentie die wij onder de onderzochte huisartsenpopulatie vonden, zou erop kunnen wijzen dat de huisartsen gekoloniseerd zijn geraakt met deze resistente isolaten via contact met de patiënt. Immers, het is niet waarschijnlijk dat huisartsen zelf veel fusidinezuur gebruiken. Het lijkt meer aannemelijk dat zij dit middel voorschrijven volgens de standaard voor oppervlakkige huidinfecties. (19)

MLST CC30 en MLST CC45 waren de 2 meest voorkomende types. Vergelijkbare resultaten zijn in andere studies in Nederland en in andere landen beschreven, uitgevoerd zowel bij ziekenhuispatiënten als in de open populatie. (20,21)

Eerder was al aangetoond dat SSCmec alleen stabiel is in MSSA-isolaten met een MRSA-gerelateerde genetische achtergrond. (15)

Tabel 1

Associated MLST-CC	GP prevalence, n (%)	Spa-CC
MRSA-associated		
CC45	29 (22.8)	015; 065/004; singleton; excluded
CC30	28 (22.0)	012, 369
CC5	13 (10.2)	002, no founder 1
CC8	10 (7.9)	024, singleton
CC22	5 (3.9)	005
CC1	4 (3.1)	No founder 2; no founder 5
CC59	2 (1.6)	No founder 3
CC398	1 (0.8)	Singleton
MSSA-associated		
CC7/15	14 (11.0)	346; no founder 4
CC121	6 (4.7)	659/171
CC182	3 (2.4)	Singleton
CC25	2 (1.6)	Singleton
CC20	1 (0.8)	Singleton
Unknown MLST	9 (7.1)	Singleton; excluded

Spa-CC = clonale complexen. MLST = multilocus sequence type. MLST-CC = multilocus sequence type clonale complexen. MRSA = Meticillineresistente *S.aureus*. MSSA = Meticillinegevoelige *S.aureus*.

De prevalentie van *S. aureus* met een MRSA-gerelateerde achtergrond was in verschillende studies ongeveer 50% (12,20). De hogere prevalentie die we onder de deelnemende huisartsen hebben vastgesteld (72%) suggereert dat huisartsen in de toekomst een grotere kans hebben om drager van MRSA te worden dan gezonde vrijwilligers. Immers het SSCmecgen kan zich het beste handhaven in *S.aureus*-isolaten met een MRSA-gerelateerde achtergrond.

Samengevat laat deze studie zien dat

- de prevalentie van *S. aureus*-dragers onder huisartsen vergelijkbaar is met die in andere populaties, zoals gezonde vrijwilligers;
- de prevalentie van *S. aureus* met een MRSA-gerelateerde genetische achtergrond bij huisartsen hoger is dan in andere populaties;
- de prevalentie van fusidinezuurresistente *S.aureus* ook in de huisartsenpraktijk in Nederland toeneemt.

Auteurs

M.I.A. Rijnders¹, S. Nys¹, C. Driessen¹, C.J.P.A. Hoebe^{1,2} R.M. Hopstaken³, G.J. Oudhuis¹, A.Timmermans⁴, E.E. Stobberingh¹

- 1 Afdeling Medische Microbiologie, Care and Public Health Research Institute, Universitair Medisch Centrum Maastricht
- 2 GGD Zuid-Limburg, Heerlen
- 3 Foundation of Primary Health Care Centres Eindhoven
- 4 Nederlands Huisartsen Genootschap, Utrecht

Correspondentie:

E.E. Stobberingh | e.stobberingh@mumc.nl

Literatuur

1. Weems JJ, Beck LB. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* As a Risk Factor for Skin and Soft Tissue Infections. *Curr Infect Dis Rep* 2002;4(5):420-425
2. Blake DP, Hillman K, Fenlon DR, et al. Transfer of antibiotic resistance between commensal and pathogenic members of the Enterobacteriaceae under ileal conditions. *Journal of Appl Microb* 2003;95:425-436
3. SWAB, Nethmap, Consumption of antimicrobial agents and antimicrobial resistance among medically important bacteria in the Netherlands. 2010.
4. Rothberg MB, Haessler SD, Brown RB. Complications of viral influenza. *Am J Med* 2008;121(4):258-264
5. Sjolund M, Kahlmeter G. Staphylococci in primary skin and soft tissue infections in a Swedish country. *Scand J Infect Dis* 2008;40(11-12):894-898
6. Albrich WC, Harbarth S. Health-care workers: source, vector, or victim of MRSA? *Lancet Infect Dis* 2008;8(5):289-301
7. Mulqueen J, Cafferty F, Cormican M, et al. Nasal carriage of meticillin resistant *Staphylococcus aureus* in GPs in the West of Ireland. *Br J Gen Pract* 2007;57(543):811-813
8. Isenberg HD, *Essential procedures for clinical microbiology*. Washington, DC: ASM Press, 1998.
9. Toma E, Barriault D. Antimicrobial activity of fusidic acid and disk diffusion susceptibility testing criteria for gram-positive cocci. *J Clin Microbiol* 1995;33(7):1712-1715.
10. Fuchs PC, Jones RN, Barry AL. Interpretive criteria for disk diffusion

- susceptibility testing of mupirocin, a topical antibiotic. *J Clin Microbiol* 1990; 28(3):608-609
11. O'sullivan MV, CAI Y, Kong F, et al. Influence of disk separation distance on accuracy of the disk approximation test for detection of inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus* spp. *J Clin Microbiol* 2006;44(11):4072-4076
 12. Nulens E, Stobberingh EE, van Dessel H, et al. Molecular characterization of *Staphylococcus aureus* bloodstream isolates collected in a Dutch University Hospital between 1999 and 2006. *J Clin Microbiol* 2008;46(7):2438-2341
 13. Peeters KA, Mascini EM, Blok HE, Sanders CJ. Increase in rate of resistance to fusidic acid among *Staphylococcus aureus* isolates from patients admitted with atopic dermatitis. *Ned Tijdschrift Geneesk*, 2002; nov 2; 146 (44):2100-1
 14. Katayama Y, Robinson DA, Enright MC, et al. Genetic background affects stability of *mecA* in *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 2005;43(5):2380-2383
 15. Nubel U, Roumagnac P, Feldkamp M, et al. Frequent emergence and limited geographic dispersal of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105(37):14130-14135
 16. Donker GA, Deurenberg RH, Driessen C, et al. The population structure of *Staphylococcus aureus* among general practice patients from The Netherlands. *Clin Microbiol Infect* 2009;15(2):137-143
 17. Kluytmans J, van Belkum A, Verbrugh H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clin Microbiol Rev* 1997;10(3):505-520
 18. Koning S, van Suijlekom-Smit LW, Nouwen JL, et al. Fusidic acid cream in the treatment of impetigo in general practice: double blind randomised placebo controlled trial. *BMJ* 2002;324(7331):203-206
 19. Wiersma TJ, Boukes FS, Geijer RMM, Goudswaard AN. NHG Standaarden voor de huisarts 2008. Utrecht: Bohn Stafleu van Loghum, 2007
 20. Melles DC, Tenover FC, Kuehnert MJ, et al. Overlapping population structures of nasal isolates of *Staphylococcus aureus* from healthy Dutch and American individuals. *J Clin Microbiol* 2008;46(1) 235-241
 21. Rijnders MIA, Deurenberg RH, Boumans ML, et al. Flucloxacillin, still the empirical choice for putative *Staphylococcus aureus* infections in intensive care units in the Netherlands. *J Antimicrob Chemother* 2009;64(5):1029-1034