

Verantwoording moleculaire analyse van ESBL isolaten in de PPO studie

In de puntprevalentiestudie (PPO) worden extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) producerende bacterie-isolaten verzameld. De bacterie-isolaten worden met moleculaire methoden gekarakteriseerd. Op de manier wordt de verwantschap tussen de verschillende isolaten bepaald. Dit is nodig om te bepalen of binnen een verpleeghuis mogelijk overdracht van één of meer ESBL producerende bacteriestammen van cliënt op cliënt heeft plaatsgevonden.

Om met enige precisie iets te kunnen zeggen over overdracht (verspreiding) van ESBL tussen cliënten wordt een heel nauwkeurige moleculaire methode ingezet. Hierbij wordt de samenstelling van het hele DNA van de bacterie-isolaten bepaald (WGS, whole genome sequencing). Uit de DNA data kan de aanwezigheid en samenstelling van een groot aantal genen van de gevonden bacteriestammen afgeleid worden. Door de samenstelling van deze duizenden genen in de bacterie-isolaten met elkaar te vergelijken, kan bepaald worden of cliënten dezelfde bacteriestam dragen en er dus overdracht binnen het verpleeghuis heeft plaatsgevonden. Deze manier van vergelijken van een groot aantal genen wordt de whole genome multi-locus sequence typing (wgMLST) genoemd.

In de wgMLST analyses zullen bacterie-isolaten meestal niet een identieke genensamenstelling hebben, zelfs niet als het dezelfde bacteriestam betreft. Dit komt doordat het DNA van de bacterie continue veranderingen (mutaties) ondergaat. Echter, als er sprake is van dezelfde bacteriestam zullen de isolaten in slechts een beperkt aantal genen van elkaar verschillen. Als isolaten nauwelijks van elkaar verschillen spreken we van genetische clustering.

Voor de PPO studie is vooraf vastgesteld wanneer isolaten uit cliënten dusdanig verwant zijn dat we over een cluster spreken. Er werd voor twee situaties vooraf bepaald hoeveel genen isolaten van elkaar verschillen:

- als de isolaten afkomstig waren uit dezelfde patiënt of
- als isolaten verkregen waren uit patiënten in bekende uitbraken.

Bovendien werd ter vergelijking ook de mate van overeenkomst tussen isolaten die met zekerheid niet gerelateerd waren onderzocht. De betrouwbaarheid van deze benadering is besproken en bevestigd door medisch microbiologische laboratoria van een drietal Nederlandse universitaire medische centra. Voor de bacteriesoort *Escherichia coli* geldt daarom dat als isolaten niet meer dan 25 van de 4500 onderzochte genen van elkaar verschillen er sprake is van een cluster. Voor *Klebsiella pneumoniae* spreken we van een cluster als isolaten in niet meer dan 20 van de 5000 genen van elkaar verschillen.

De bovengenoemde afkapwaarden zijn niet absoluut en daarom wordt voor isolaten die binnen een genetisch cluster vallen ook altijd onderzocht of de samenstelling van de resistentiegenen in het DNA gelijk is. Daarnaast worden altijd de wgMLST data van een groot aantal niet verwante ESBL isolaten meegenomen ter vergelijking. Alleen als deze aanvullende analyses de sterke verwantschap bevestigen zal gerapporteerd worden dat er sprake is van een cluster.

Op basis van deze analyses ontvangen de medisch microbiologische laboratoria en verpleeghuizen een rapportage waarin aangegeven staat of bij verschillende cliënten verwante isolaten gevonden zijn. Bij de conclusie staat dan bijvoorbeeld: 'Er zijn binnen uw instelling bij cliënten C10 en C15 verwante isolaten gevonden (Cluster 1)'.