

Coördinaten van het referentiecentrum

Dr. O. DENIS Tel.: 02/555.45.19	U.Z. Erasmus - Bacteriologie Fax: 02/555.64.59	Lenniksebaan 808 E-mail: odenis@ulb.ac.be	1070 Brussel
------------------------------------	---	--	--------------

Het referentiecentrum voor stafylokokken-MRSA op de **Université Libre de Bruxelles** verleent de volgende diensten:

- Identificatie en antibiogram van atypische stafylokokkenstammen met behulp van:
 - ❖ fenotypische methodes: biochemische tests, minimale remmingconcentraties, fenotype van de glycopeptidengevoeligheid (populatiestudie);
 - ❖ genotypische methodes: identificatie van de verschillende stafylokokkenspecies door sequentie-analyse van gen *rpoB*, opsporing van de genen *nuc* (voor de identificatie van *S. aureus*), *mecA* (coderend voor de oxacillineresistentie), *mupA* (coderend voor de mupirocineresistentie) en van de genen resistent tegen macroliden-lincosamiden-streptograminen (MLS), tetracyclinen en aminoglycosiden.
- Opsporing van genen coderend voor toxinen: de exfoliatinen A, B en D, Panton Valentine Leucocidine (PVL), Toxic Shock Syndroom Toxin (TSST-1) en 17 enterotoxinen waaronder *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *seg*, *seh*, *sei*, *selj*, *selk*, *sell*, *selm*, *seln*, *selo*, *selp*, *selq*, *selr*.
- Moleculaire typering: genomische macrorestrictie door Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE), multi-locus sequence typering (MLST), *spa* sequence typering en typering van de *mec* chromosoomcassette van de stafylokok (SCC*mec*), bepaling van de groep *agr*, bepaling van de aanwezigheid van het gen *arcA*, marker van het "pathogeniciteitseilandje (pathogenicity island)" van het Arginine Catabolic Mobile Element (ACME).

Deze analyses worden op verzoek van de laboratoria uitgevoerd voor klinische stammen met diagnoseproblemen of voor stafylokokkencollecties afkomstig van lokale epidemiologische enquêtes. De aanvraagformulieren voor dergelijke analyses kunnen via de site van het referentiecentrum voor stafylokokken-MRSA (<http://www.mrsa.be>) worden gedownload.

Karakterisering van atypische stafylokokkenstammen

In 2011 heeft het laboratorium 104 klinische stafylokokkenstammen gekarakteriseerd in het kader van gerichte identificatie- en antibiogramaanvragen van 40 laboratoria. Er is geen enkele MRSA-stam met verminderde glycopeptidengevoeligheid (GISA) vastgesteld.

Van de 71 verkregen stammen voor confirmatie van oxacilline werden er 4 (6%) onduidelijke MRSA waargenomen namelijk *mecA* positief met een fenotypische gevoeligheid tov oxacilline (MIC < 2 mg/l). Verder werden 2 (2,8%) BORSA/MODSA stam waargenomen, oxacilline resistent (MIC > 2 mg/l) maar die niet beschikt over het *mecA* gen. De variant van het gen *mecA* (*mecA*_{LGA251} of *mecC*, Stegger et al. Clin. Microbiol. Infect 2011. 18 : 395-400) is in deze 2 stammen niet aangetroffen. Deze stammen zijn moeilijk te detecteren met de huidige gebruikte technieken in de routine laboratoria. De resistentie van mupirocine werd voor 29 stammen van 9 ziekenhuizen geanalyseerd door MIC bepaling en door PCR. 18 hiervan (62%) vertoonden een hoge resistentiewaarde tov mupirocine (MIC > 524 mg/l) en de aanwezigheid van *mupA*.

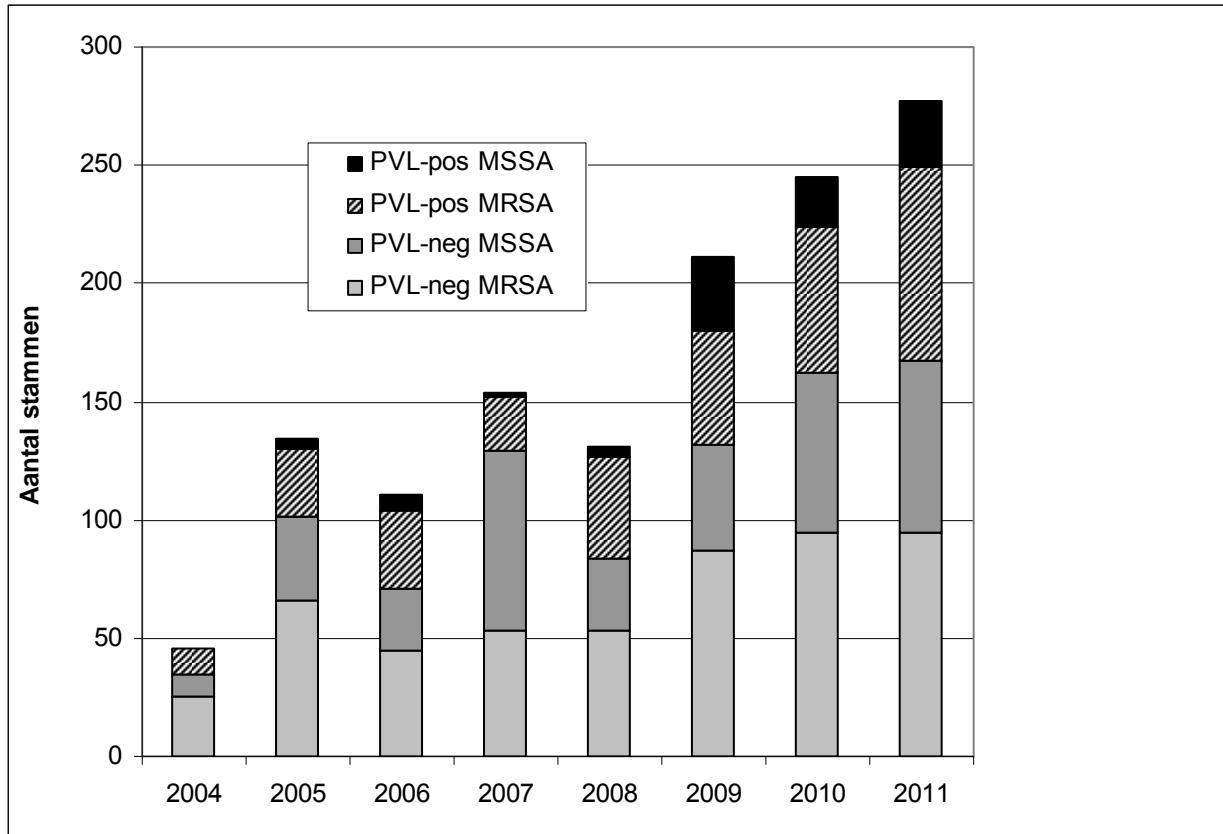
Opsporing van toxinen

In 2011 werden 277 stammen van *S. aureus*, waarvan 177 MRSA en 100 MSSA, afkomstig van 59 ziekenhuizen, voor de opsporing van toxinen naar het referentiecentrum verstuurd.

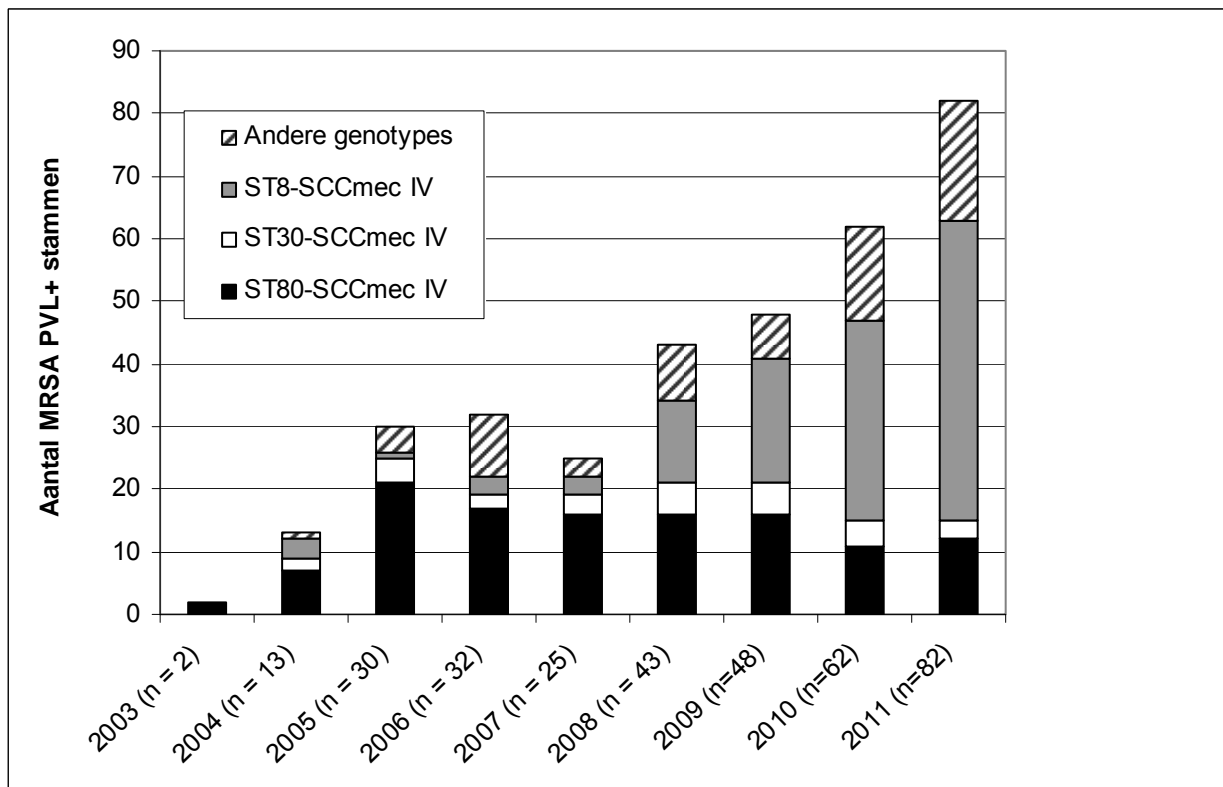
De genen *lukS-lukF* PV, coderend voor Panton Valentine Leucocidine (PVL), zijn aangetroffen in 82 (46%) MRSA-stammen afkomstig van 28 ziekenhuizen. De PVL-positieve MRSA-stammen werden geïsoleerd uit patiënten van gemiddelde leeftijd (mediaan 40 jaar, interval <1-87 jaar), waarvan een meerderheid ambulante verzorging kregen toegediend of geen bijzondere medische antecedenten hadden. De stammen werden voornamelijk geïsoleerd uit huidinfecties (n=58, 70%), vooral abcessen of weke weefsels (n=29) en furunkels (n=6) maar zijn ook aangetroffen in diep vocht (n=2) en uitstrijkje (n=7).

Door moleculaire typering werd aangetoond dat de meerderheid (77%) van de PVL-positieve stammen tot 3 klonen behoorden: Europese kloon ST80-SCC*mec* IV (n=12), kloon ST8-SCC*mec* IV (n=48) en kloon ST30-SCC*mec* IV (n=3) (figuur 2). 37/48 (77%) stammen behorend tot de kloon ST8-SCC*mec* IV bevatten het "pathogeniciteitseilandje" van het ACME, karakteristiek voor stammen van MRSA USA300 (tabel 1).

Figuur 1: *S. aureus* (MRSA): aantal MRSA-stammen verstuurd voor PVL-opsporing, 2004-2011



Figuur 2: *S. aureus* (MRSA): evolutie van de voornaamste genotypes van PVL-positieve CA-MRSA-stammen, 2003-2011



Tabel 1: *S. aureus* (MRSA): klinische en demografische karakteristieken van de patiënten met MRSA USA300, 2011

N patiënten	Leeftijd (range)	Bron	Klinisch	Regio
12	13-43	Frottis peau	Abcès	Brussel, Vlaanderen, Wallonie
14	3-72	Frottis peau	Lésion cutanée	Brussel, Vlaanderen, Wallonie
4	4-32	Frottis peau	Furonde	Vlaanderen, Wallonie
2	2-42	Frottis peau	Cellulite	Brussel, Wallonie
1	27	Frottis	Bursite	Vlaanderen
3	5-31	Frottis nez, périnée	Dépistage	Vlaanderen, Wallonie
1	56	Inconnue	Inconnue	Vlaanderen

mrsa_t1

28 (28%) MSSA stammen bezitten de *lukS-lukF* genen coderend voor Panton-Valentine leucocidine (PVL). Door moleculaire typering werd aangetoond dat deze 28 PVL-positieve MSSA stammen een verschillende distributie tov de MRSA stammen vertoonden. We vonden voornamelijk de klonen ST30 (n=6), ST121 (n=5) en 4 andere genotypes. Een PVL-positieve MSSA-stam behoorde tot de kloon van dierlijke oorsprong ST398.

De toxine TSST-1 is vastgesteld in 9 MRSA-stammen en 12 MSSA-stammen. De TSST-1 positieve MRSA-stammen zijn geïsoleerd bij patiënten van alle leeftijden (mediaan 30 jaar, interval: 2-74 jaar). De stammen werden geïsoleerd uit abcès (n=1), uitstrijkje (n=1), oppervlakkige huidletsels (n=6), uitstrijkje van een screening (n=1) of andere klinische sites (n=1). Deze TSST-1-positieve stammen behoren voornamelijk tot de PFGE-types J (n=3) en C (n=2).

Er zijn genen coderend voor de exfoliatines A en B aangetroffen in 22 MSSA-stammen geïsoleerd uit meestal blaasvormige huidletsels (n=10), uitstrijkjes (n=2) en hemoculturen (n=3). Al deze stammen vertoonden hetzelfde PFGE type N behorende tot de ST121 clone die overeenkomt met de Europese impetigokloon, resistent aan fusidinezuur (Eefic). Het gen coderend voor exfoliatine A is aangetroffen in 4 MSSA-stammen en in 2 MRSA-stammen. Het gen coderend voor exfoliatine B alleen is aangetroffen in 1 MSSA-stam.

Typering voor het onderzoek van lokale epidemieën

In 2011 is de moleculaire typering door PFGE en/of *spa*-typering uitgevoerd voor 276 stammen van *S. aureus* waarvan 216 MRSA-stammen en 60 MSSA-stammen. Hiervan werden 89 MRSA stammen en 13 MSSA stammen verstuurd voor plaatselijke epidemiologische enquêtes of plaatselijke surveillance van MRSA. De 89 MRSA stammen van 11 ziekenhuizen werden geclassificeerd in 14 verschillende genotypes. De voornaamste genotypes zijn deze voordien teruggevonden in onze ziekenhuizen: genotype A-ST8-*SCCmec* IV gevonden in 23 (26%) stammen van 5 ziekenhuizen, genotype B2-ST45-*SCCmec* IV aanwezig in 23 (26%) stammen geïsoleerd in 4 ziekenhuizen en het genotype C-ST5-*SCCmec* II gevonden in 24 (27%) stammen van 8 ziekenhuizen.

Programma EARSS voor de surveillance van de resistentie van *S. aureus* geïsoleerd uit hemoculturen

Sinds 2005 maken bacteriëmiën met *S. aureus*, zowel gevoelig als resistent tegen oxacilline, deel uit van een rapportering van klinische en bacteriologische gegevens, in samenwerking met het WIV-ISP. In 2010 zijn 1057 patiënten met een eerste opstoot van bacteriëmiën met *S. aureus* geregistreerd. Onder deze patiënten werden 217 gevallen van bacteriëmiën met MRSA bevestigd, of 21% MRSA (tabel 2). Op de website http://www.nsih.be/ears-net/downloads/2010_EARSS_Annual_Report.pdf staan de gegevens van alle landen die deelnemen aan het programma EARSS. De gegevens van 2011 zijn nog niet beschikbaar.

Tabel 2: *S. aureus* (MRSA): resultaten van de oxacillinegevoeligheid van *S. aureus* geïsoleerd uit hemoculturen in België, 1999-2010

Jaar	Number			Totaal N	Percentage		
	S	I	R		S	I	R
1999	340	0	105	445	76,404	0,0	23,596
2000	520	0	137	657	79,148	0,0	20,852
2001	729	0	213	942	77,389	0,0	22,611
2002	783	0	309	1092	71,703	0,0	28,297
2003	798	0	336	1134	70,37	0,0	29,63
2004	819	0	408	1227	66,748	0,0	33,252
2005	719	0	329	1048	68,607	0,0	31,393
2006	670	0	188	858	78,089	0,0	21,911
2007	656	0	199	855	76,725	0,0	23,275
2008	719	0	187	906	79,36	0,0	20,64
2009	748	0	200	948	78,903	0,0	21,097
2010	840	0	217	1057	79,47	0,0	20,53

mrsa_t2

Enquête van SeqNet over de klonale diversiteit van de stammen van *S. aureus* die in de Europese ziekenhuizen bacteriëmieën veroorzaken

In het kader van het Europese programma voor de surveillance van bacteriëmieën met *S. aureus* georganiseerd door SeqNet (European Network of Laboratories for Sequence Based Typing of Microbial Pathogen, www.seqnet.org), is aan 20 ziekenhuizen gevraagd om 10 klinische stammen van *S. aureus* (5 MRSA en 5 MSSA), consecutief en niet-geduplicateerd, geïsoleerd uit hemoculturen te verzamelen. De stammen zijn naar het nationaal referentiecentrum voor *S. aureus* gestuurd, samen met een formulier waarin demografische gegevens staan: leeftijd, geslacht, afdeling waar de patiënt is opgenomen, klinische site van de isolatie van de stam, isolatiedatum en verwerving (nosocomiaal of geïmporteerd) van de stam. Een nosocomiale verwerving van MRSA is gedefinieerd als zijnde de isolatie van MRSA uit een patiënt na de eerste 48 uur van zijn opname.

Er hebben 18 laboratoria aan deze enquête deelgenomen. Zij waren gevestigd in Vlaanderen (n=10), Wallonië (n=6) en Brussel (n=2).

Demografische gegevens

De verhouding man/vrouw van de patiënten van wie een MRSA-stam is verstuurd, bedraagt 2,6 en de mediane leeftijd 72,5 jaar (interval: 9-97 jaar) (tabel 3). De meeste patiënten waren opgenomen (77%), onder wie 6 (11%) op intensive care. Zestien patiënten (29%) zijn binnen de 14 dagen volgend op hun MRSA-infectie overleden.

De verhouding man/vrouw van de patiënten van wie een MSSA-stam is verstuurd, bedraagt 1,5 en de mediane leeftijd 68 jaar (interval: 0- 95 jaar) (tabel 3). Eenzeventig patiënten (83%) waren opgenomen, onder wie 17 (20%) op intensive care. Vijftien patiënten (18%) zijn binnen de 14 dagen volgend op hun MSSA-infectie overleden.

Tabel 3: *S. aureus* (MRSA): verdeling volgens geslacht en leeftijd van de patiënten met *S. aureus* in 2011 - Enquête SeqNet, België

Leeftijd (jaar)	N stammen van MRSA geïsoleerd uit patiënten		N stammen van MSSA geïsoleerd uit patiënten	
	Vrouw	Man	Vrouw	Man
<20	0	1	3	3
20-49	4	3	7	7
50-59	2	3	2	9
60-69	1	9	5	7
70-79	5	14	10	11
>=80	4	10	10	11
Totaal	16	40	37	48

mrsa_t3

Bacteriële stammen

Van de 61 MRSA-stammen verstuurd door 18 ziekenhuizen zijn er 56 (92%) MRSA bevestigd door de analyse van het genotype (PCR 16sRNA, *nuc*, *mecA*). Vijf stammen zijn geïdentificeerd als zijnde MSSA. Van de 86 verzamelde MSSA is de identificatie van 80 stammen (93%) bevestigd door multiplex PCR. Zes stammen zijn geïdentificeerd als stafylokokken met negatieve coagulase. Elk ziekenhuis heeft 1 à 5 MRSA-stammen en 3 à 5 MSSA-stammen verzameld.

Achtenveertig procent van de MRSA-stammen is verworven in een ziekenhuis. Het percentage nosocomiale verwervingen van MRSA is gedaald in vergelijking met de laatste nationale surveillance van SeqNet georganiseerd in 2006 (48% versus 59%).

Verdeling van de voornaamste epidemische genotypes

De *spa*-types zijn bepaald dankzij de software Ridom StaphType 1.4 (Ridom GmbH) en geanalyseerd volgens het algoritme BURP met de standaard parameters.

De genotypering, uitgevoerd voor 133 stammen van *S. aureus*, klasseert deze in 11 CC *spa*, met elk een aantal stammen variërend tussen 2 en 33. De meerderheid van de stammen behoort tot de *spa* CC740 (25%), CC008 (18%) en CC002 (12%). Deze CC *spa* stammen overeen met de grootste epidemische klonen, bepaald door multilocus sequence typing (MLST), ST45 voor *spa* CC740, ST8 (of 'related': ST247, ST250 en ST254) voor *spa* CC008 en ST5 voor *spa* CC002. Negen stammen zijn uitgesloten (< 5 repeats), 21 stammen zijn geklasseerd in 12 singletons en 1 stam is niet typeerbaar.

Van de 56 MRSA-stammen behoorde 89% tot de *spa* CC008- ST8 (38%), *spa* CC740- ST45 (38%) of *spa* CC002- ST5 (13%). De 80 MSSA-stammen tonen echter een grotere klonale diversiteit en zijn geklasseerd in 11 CC *spa* met elk 2 à 12 stammen. De meest aangetroffen CC *spa* in de MRSA-stammen zijn ook aanwezig in de MSSA-stammen maar proportioneel minder: CC008- ST8 (5%), CC740- ST45 (15%) en CC002- ST5 (11%). Deze vaststellingen bevestigen de resultaten van M. Hallin et al. (2007) met betrekking tot de verwantschap tussen MRSA en MSSA onder de opgenomen patiënten in België. Bepaalde CC *spa* zijn uitsluitend in MSSA-stammen vastgesteld, zoals de CC021 overeenstemmend met ST30 door MLST.

De opsporing van genen coderend voor de exotoxines heeft de aanwezigheid aangetoond van de genen coderend voor de PVL in een MSSA-stam (*spa* type t355) en voor de TSST-1 in 3 MRSA-stammen behorend tot genotype CC002-ST5 en 8 MSSA-stammen behorend tot genotype CC021-ST30.

Analyse van *S. aureus* van dierlijke oorsprong

7 MRSA-stammen (1,4%) behorend tot de kloon ST398 overeenkomstig met de stammen van dierlijke oorsprong werden bij ambulante of gehospitaliseerde patiënten in Vlaanderen en Wallonië gedetecteerd. Die stammen werden geïsoleerd uit hemo-culturen (n=1), screening (n=1) of onbekende oorsprong (n=5). De verzamelde gegevens hebben getoond dat 4 patiënten directe contacten met dieren hadden (boer, veterinaire).

Tabel 4: *S. aureus* (MRSA): demografische en klinische gegevens van de humane MRSA-stammen behorend tot genotype ST398, 2003-2011

Jaar	Geslacht	Leeftijd (jaar)	Bron	Dienst	Verkrijging	Stad
2003	M	67	Ademhalingswegen	Int. Geneeskunde	Gemeenschap	St-Truiden
	V	76	Bloed	Anderen	Nosocomiaal	Brugge
2005	M	70	Opsporing	Anderen	Nosocomiaal	Brugge
	V	67	Urine	Int. Geneeskunde	Nosocomiaal	Roeselare
	V	76	Ademhalingswegen	Geriatric	Gemeenschap	Roeselare
2006	V	?	Niet vermeld	Niet vermeld	Niet vermeld	Roeselare
	M	6	Bloed	Kindergeneeskunde	Gemeenschap	Ieper
	V	64	Etter	Heelkunde	Niet vermeld	Roeselaere
2007	M	?	Keel	Ambulant	Gemeenschap	Gent
	?	?	Neus	Onbekend	Niet vermeld	Gent
	V	43	Niet vermeld	Ambulant	Niet vermeld	Brugge
	V	?	Niet vermeld	Niet vermeld	Niet vermeld	Roeselaere
	M	1	Etter	Ambulant	Gemeenschap	Herentals
	M	17	Neus	Arts	Gemeenschap	Turnhout
2008	M	?	Neus	Hematologie	Gemeenschap	Yvoir
	M	?	Neus	Verplegend personeel	Gemeenschap	Kortrijk
	M	56	Sputum	Intensieve zorgen	Gemeenschap	Roeselare
	?	?	Keel	Niet vermeld	Niet vermeld	Gent
2009	V	41	Niet vermeld	Ambulant	Gemeenschap	Turnhout
	V	52	Neus	Heelkunde	Gemeenschap	Lochristi
	V	51	Neus	Ambulant	Gemeenschap	Waarschaat
2010	M	85	Bloed	Intensieve zorgen	Niet vermeld	Yvoir
	M	47	Abces	Ambulant	Gemeenschap	Thuin
	M	60	Bloed	Geneeskunde	Gemeenschap	Yvoir
	V	69	Abces	Intensieve zorgen	Niet vermeld	Torhout
	M	48	Bot	Heelkunde	Gemeenschap	Gent
	M	43	Etter	Dermatologie	Gemeenschap	Gent
	M	68	Bloed	Heelkunde	Gemeenschap	Yvoir
	V	<1	Keel	Niet vermeld	Niet vermeld	Gent
2011	M	32	Hémoculture	Orthopédie	Non précisé	Oostende
	M	24	Niet vermeld	Niet vermeld	Gemeenschap	Geel
	?	?	Nez	Niet vermeld	Niet vermeld	Ieper
	M	35	Nez	Intensieve zorgen	Niet vermeld	Hasselt
	M	37	Nez	Niet vermeld	Niet vermeld	Aalter
	V	37	Nez	Gynécologie	Niet vermeld	Hasselt
	V	28	Gorge	Gynécologie	Niet vermeld	Hasselt

mrsa_t4

Nationaal surveillanceprogramma voor MRSA in de acute ziekenhuizen

Sinds 1995 organiseert het referentielaboratorium voor stafylokokken, in samenwerking met het WIV-ISP, periodiek enquêtes voor de microbiologische surveillance van MRSA. Het doel van deze surveillance bestaat erin de evolutie van de genotypes van de MRSA en hun resistentie tegen antibiotica in de Belgische ziekenhuizen voor acute verzorging op te volgen.

In het kader van het protocol van de zevende enquête georganiseerd in 2011 is aan de laboratoria voor microbiologie van de ziekenhuizen gevraagd om 3 consecutieve klinische stammen van MRSA te verzamelen en 2 klinische stammen van MSSA afkomstig van verschillende patiënten. De stammen zijn naar het laboratorium verstuurd, samen met een formulier waarin de demografische gegevens staan: leeftijd, geslacht, afdeling waar de patiënt is opgenomen, de klinische site voor de isolatie van de stam en het type verwerving (nosocomiaal of geïmporteerd). Een nosocomiale verwerving van MRSA is gedefinieerd als zijnde een isolatie van MRSA bij een patiënt na de eerste 48 uur van zijn opname.

Deelname

In 2011 namen 107/156 (68%) van de ziekenhuizen deel aan het nationaal programma voor de microbiologische surveillance. Tabel 5 toont de deelname aan de enquêtes georganiseerd sinds 1995.

Tabel 5: Deelname van de ziekenhuizen (uitgedrukt in ziekenhuissites) aan de enquêtes voor de microbiologische surveillance van MRSA, 1995-2011

Regio	1995		1997		2001		2003		2005		2008		2011	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Brussel	12		14		12		16		13		19		16	
Vlaanderen	46		41		49		57		65		50		55	
Wallonie	27		35		37		39		38		40		36	
België	85	43	90	45	98	51	112	62	116	65	109	70	107	69
	198		200		192		180		178		155		156	

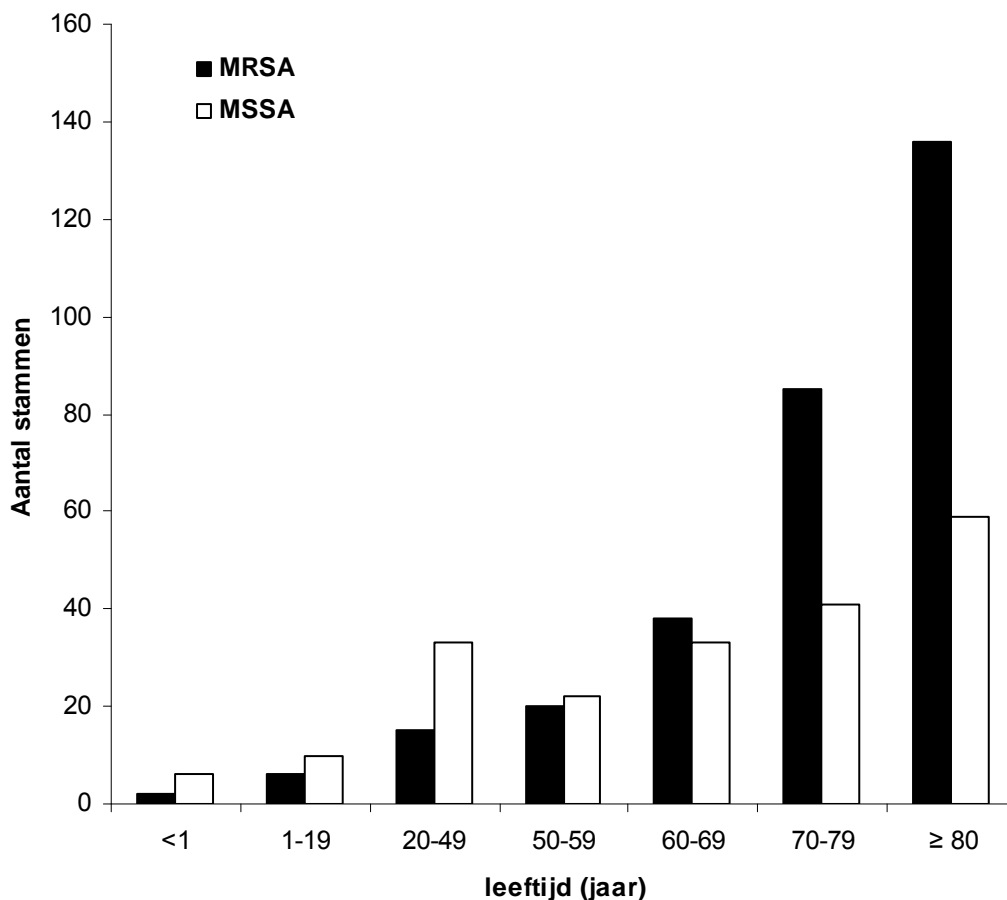
mrsa_t5

Demografische gegevens

De mediane leeftijd waarvoor een MRSA-stam is verstuurd, is 79 jaar (interval: 0-98 jaar) (figuur 3). De meerderheid van de patiënten met een infectie of kolonisatie met MRSA waren oudere personen (> 60 jaar). De patiënten waren voornamelijk opgenomen op de afdelingen geriatrie (30%), geneeskunde (24%), chirurgie (13%) en intensive care (10%). De MRSA-stammen zijn aangetroffen in screenings van huid of slijmen (54%), infecties van de huid of van de weke weefsels (22%), respiratoire stalen (10%), etter (5%), urine (3%), hemoculturen (2%) en andere stalen (2%).

De mediane leeftijd waarvoor een MSSA-stam is verstuurd, is 69 jaar (interval: 0-92 jaar) (figuur 3). De patiënten waren voornamelijk opgenomen op de eenheden geneeskunde (21%), chirurgie (18%), intensive care (16%) of geriatrie (12%). De MSSA-stammen zijn aangetroffen in infecties van de huid of de weke weefsels (36%), respiratoire stalen (22%), etter (16%), hemoculturen (11%), urine (4%) en andere stalen (10%).

Figuur 3: *S. aureus* (MRSA) : Verdeling per leeftijd van patiënten met *S. aureus* in 2011



Bacteriële stammen

Onder de 322 ontvangen MRSA-stammen zijn na overenting 4 stammen niet opnieuw gegroeid en 317 (98%) MRSA zijn bevestigd door analyse van het genotype (PCR 16sRNA, *nuc*, *mecA*). Vijf stammen zijn geïdentificeerd als stafylokokken met negatieve coagulase (n=1) of MSSA (n=4). Onder de 214 verzamelde MSSA zijn na overenting 3 stammen niet gegroeid en de identificatie van 210 stammen (98%) is door multiplex PCR bevestigd. Er is 1 stam geïdentificeerd als zijnde een stafylokok met negatieve coagulase. Tabel 6 herneemt de voornaamste klinische sites van de isolatie van *S. aureus*.

Tabel 6: Verdeling van *S. aureus* volgens het aard van het staal, 2011

Aard van het staal	MRSA		MSSA	
	N	%	N	%
Bloed	7	2	23	11,2
Huid, weke weefsels	69	23	75	36,6
Ademhalingswegen	32	10	46	22,4
Neusuitstrijkje	166	54	7	3,4
Etter	16	5	33	16,1
Urine	8	3	8	3,9
Anderen	7	2	13	6,3
Totaal	305	100	205	100,0

mrsa_t6

In 2011 is 39% van de MRSA-stammen verworven in een ziekenhuis (tabel 7). In vergelijking met de voorgaande surveillance-studies is het aantal nosocomiaal verworven stammen gedaald.

Tabel 7: Evolutie van het type verwerving van MRSA, 1995-2011

Verwervings-type	1995		1997		2001		2003		2005		2008		2011	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Nosocomiaal	243	82,4	257	76,9	285	66,0	332	64,3	210	64,2	149	47,3	119	39,0
Geïmporteerd	52	17,6	77	23,1	147	34,0	184	35,7	117	35,8	166	52,7	186	61,0
Totaal	295	100,0	334	100,0	432	100,0	516	100,0	327	100,0	315	100,0	305	100,0

mrsa_t7

Antibioticagevoeligheid

In 2011 zijn de minimale remmingsconcentraties (MIC) met betrekking tot 17 antibiotica bepaald, net zoals bij de voorgaande enquêtes, door middel van de diluimethode in gelose, volgens de aanbevelingen van het CLSI (voorheen NCCLS) behalve voor de glycopeptiden die zijn getest door de bouillondiluimethode. Tabel 8 toont de resultaten van de gevoeligheid voor antibiotica van de 313 MRSA-stammen verzameld in 2011 in vergelijking met de gegevens van de 4 voorgaande enquêtes. Alle MRSA-stammen waren gevoelig voor glycopeptiden, tigecycline en linezolide. Meer dan 90% van de stammen waren gevoelig voor gentamicine (98%), minocycline (98%), rifampicine (99%), cotrimoxazole (99%), mupirocine (94%) en fusidinezuur (94%) en 88% van de MRSA-stammen waren gevoelig voor tetracycline. De resistentie tegen MLS was frequent, tussen 54% voor erythromycine en 40% voor clindamycine. Voor de aminoglycosiden was de resistentie tegen kanamycine (41%) en tobramycine (40%) frequenter dan de resistentie tegen gentamicine (2%). Vierennegentig procent van de stammen was resistent tegen ciprofloxacine. In 2011 waren de MRSA-stammen, met uitzondering van fusidinezuur, gevoeliger voor antibiotica dan bij de vorige surveillance van 2008.

De evolutie van de resistentie tegen andere antibiotica dan de betalactamen en gevolgd bij MSSA sinds 2003 (tabel 9). De stammen zijn heel gevoelig (> 90%) voor de meerderheid van de geteste antibiotica met uitzondering van de quinolonen (6%) en MLS (33%).

Tabel 8 : Evolutie van de MRSA-resistentie tegen antibiotica tijdens de surveillance-enquêtes, 2001–2011

Antibioticum	Kritische concentraties in mg/l	1995 n=354		1997 n=347		2001 n=455		2003 n=511		2005 n=335		2008 n=314		2011 n=313	
		% R	% I	% R	% I	% R	% I	% R	% I	% R	% I	% R	% I	% R	% I
		Oxacilline	2 - 4	98.9	0.0	99.4	0.3	99.9	0.0	100.0	0.0	99.9	0.0	100.0	0.0
Vancomycine	4 - 32	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Teicoplanine	8 - 32	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Erythromycine	0,5 - 8	80.6	4.8	64.3	4.6	64.0	0.0	59.3	0.0	64.0	0.0	59.3	0.0	53.0	1.0
Clindamycine	0,5 - 4	71.9	0.6	49.3	0.3	37.6	0.2	38.6	0.0	37,6	0,2	38,6	0,0	40,0	0,0
Ciprofloxacine	1 - 4	96.0	0.3	94.8	0.6	94.5	0.4	97.8	0.6	94,5	0,4	97,8	0,6	93,0	<1
Gentamicine	4 - 16	77.1	0.6	51.3	0.3	11.2	0.2	4.9	0.0	11,2	0,2	4,9	0,0	1,0	1,0
Tobramycine	4 - 16	84.3	0.8	61.6	4.0	45.3	1.3	44.4	0.8	45,3	1,3	44,4	0,8	38,0	2,0
Kanamycine	16 - 64	NT	NT	NT	NT	NT	NT	37.8	2.9	NT	NT	37,8	2,9	35,0	6,0
Minocycline	4 - 16	0.6	1.1	4.3	2.8	4.6	2.0	4.1	1.6	4,6	2,0	4,1	1,6	1,0	4,0
Tetracycline	4 - 16	NT	NT	NT	NT	NT	NT	9.6	0.8	NT	NT	9,6	0,8	8,0	4,0
Tigecycline	≤ 0,5	NT	NT	NT	NT	NT	NT	0,0	0,0	NT	NT	0,0	0,0	0,0	0,0
Rifampicine	1 - 4	28.0	22.3	15.9	11.5	3.5	2.0	1.4	1.6	3,5	2,0	1,4	1,6	<1	<1
Cotrimoxazole	2 - 4	1.4	0.0	0.0	0.3	0.7	0.0	0.0	0.0	0,7	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0
Linezolid	0 ≤ 4	NT	NT	NT	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Fusidinezuur	2 - 32	0.6	1.6	0.9	1.4	0.7	5.8	0.8	0.6	0,7	5,8	0,8	0,6	6,0	0,0
Mupirocine	2 - 1024	0.8	4.3	2.6	4.9	3.5	6.8	3.5	2.9	3,5	6,8	3,5	2,9	4,0	2,0

NT : niet getest

mrsa_18

Tabel 9 : Evolutie van de resistentie van de MSSA tegen de antibiotica tijdens de surveillance-enquêtes, 2003–2011

Antibioticum	Kritische concentraties in mg/l	2003 n=102		2005 n=216		2008 n=211		2011 n=210	
		% R	% I	% R	% I	% R	% I	% R	% I
		Oxacilline	2 - 4	ND	ND	0.0	0.0	0.0	0.0
Vancomycine	4 - 32	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Teicoplanine	8 - 32	ND	ND	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Erythromycine	0,5 - 8	21.6	0.0	20.4	1.4	17.5	4.2	25.0	2.0
Clindamycine	0,5 - 4	3.9	0.0	4.6	0.0	3.3	0.0	6.0	0.0
Ciprofloxacine	1 - 4	ND	ND	7.8	5.0	9.0	0.4	6.0	0.0
Gentamicine	4 - 16	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Tobramycine	4 - 16	2.0	2.0	0.4	0.4	0.4	0.4	1.0	0.0
Kanamycine	16 - 64	2.0	1.0	0.9	0.0	0.9	0.0	1.0	<1
Minocycline	4 - 16	0.0	0.0	0.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Tetracycline	4 - 16	4.0	0.0	3.6	0.0	3.3	0.9	5.0	0.0
Rifampicine	1 - 4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Cotrimoxazole	2 - 4	0.0	0.0	1.3	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0
Linezolid	≤ 4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Fusidinezuur	2 - 32	1.0	0.0	0.4	3.1	1.9	1.9	10.0	0.0
Mupirocine	2 - 1024	0.0	0.0	1.4	0.5	1.4	0.0	0.0	<1

NB : niet bepaald

mrsa_19

Verspreiding van de MRSA van epidemische genotypes en regionale verdeling

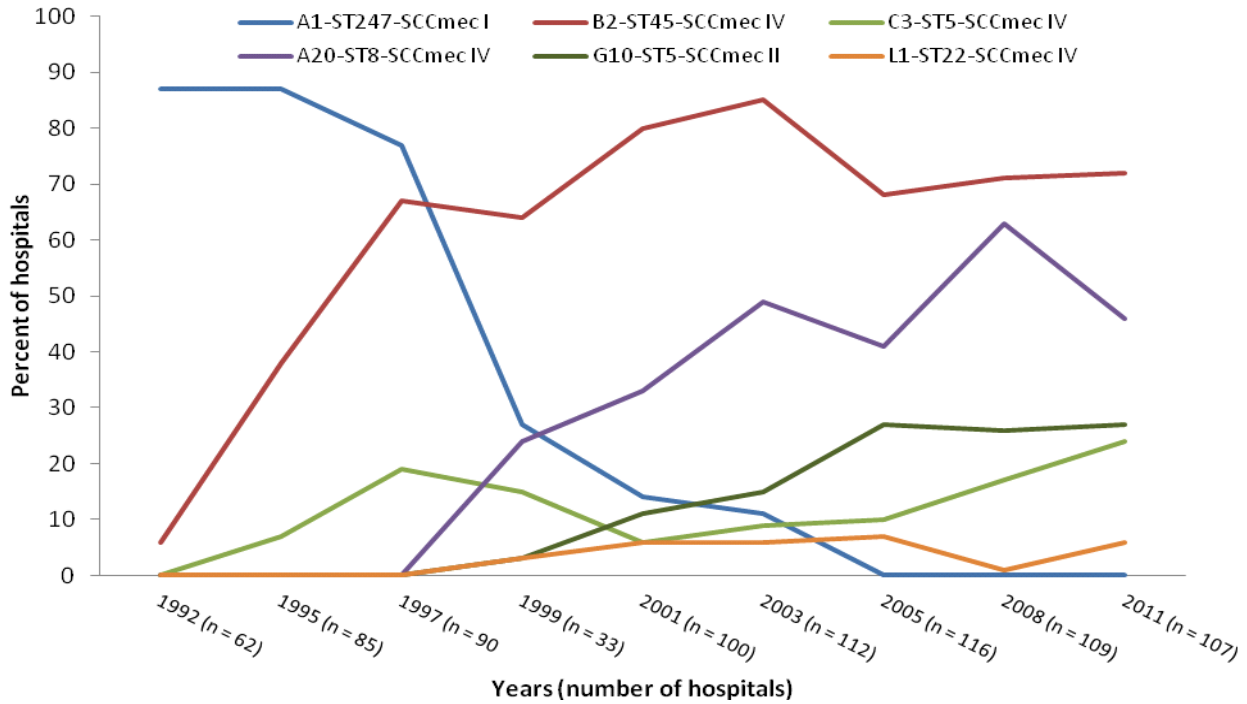
In 2011 is de moleculaire typering uitgevoerd door de sequentieanalyse van de hypervariabele regio van de IgG binding protein A (*spa* typing). De *spa*-types zijn bepaald dankzij de software Ridom StaphType (Ridom GmbH) en geanalyseerd volgens het algoritme BURP met de standaard parameters. De bepaling van de cassette *mec* (*SCCmec*) is gerealiseerd door middel van multiplex PCR. De overeenkomsten tussen PFGE en *spa*-type (96%) en tussen MLST en *spa*-type zijn geverifieerd op een collectie van 125 stammen die de verschillende types PFGE vertegenwoordigen die sinds 1992 in België zijn waargenomen. Er is een kloon gedefinieerd door zijn *spa*-groep geassocieerd met het type cassette *mec* (*SCCmec*) (M. Hallin et al., 2007).

In 2011 toont de typering van de cassette *SCCmec* dat de meeste MRSA-stammen cassettes dragen van type IV (52,1%) of type II (13,1%). Men stelt vast dat de cassettes *SCCmec* van type V (8,3%) en type VI (2,1%) opduiken en dat er varianten aanwezig zijn van *SCCmec* IV (2,5%) die het gen bezitten dat voor een tweede recombinase combineert. Door *spa* typing toont de genotypering van 313 MRSA-stammen verzameld in 107 ziekenhuizen dat 90% van de MRSA behoren tot 4 grote epidemiologische klonen: *spa* CC038 (voorheen PFGE B2) ST45-*SCCmec* IV (42,8%); *spa* CC008 (voorheen A20) ST8-*SCCmec* IV (23,6%), *spa* CC002 (voorheen PFGE G10) ST5-*SCCmec* II (12,8%) en *spa* CC002 (voorheen PFGE C3) ST5-*SCCmec* IV (10,5%). Deze klonen zijn aangetroffen in respectievelijk 77 (72%), 49 (46%), 29 (27%) en 26 (24%) van de deelnemende ziekenhuizen (figuur 4). Er zijn 3 stammen van PVL positieve MRSA (0,9%) vastgesteld waarvan 2 behorend tot de kloon van CA-MRSA USA300 (ST8-*SCCmec* IV), afkomstig van ziekenhuizen gevestigd in Wallonië (n=2) en Vlaanderen (n=1). Zeven MRSA-

stammen (2,2%) met de genotypische karakteristieken (t011-ST398), identiek aan de stammen aangetroffen bij dieren zijn opgespoord bij patiënten opgenomen in Vlaanderen.

Figuur 4 toont de evolutie sinds 1992 van de proportie acute ziekenhuizen die epidemische klonen van MRSA herbergen. De stammen behorend tot de kloon ST45- SCCmec IV zijn opgetreden in enkele ziekenhuizen gevestigd in het westen van België in 1992. Sinds 2001 hebben zij zich over heel het land verspreid en vormen zij de overheersende epidemische kloon. De stammen behorend tot de kloon ST8-SCCmec IV zijn voor het eerst geïsoleerd in 1999, vooral in het zuiden van het land. In 2011 zijn deze klonen ST45-SCCmec IV en ST8-SCCmec IV altijd in de meerderheid geweest maar de kloon ST8-SCCmec IV daalt in vergelijking met de laatste enquête.

Figuur 4 : *S. aureus* (MRSA) : Evolutie van de voornaamste epidemische klonen in de Belgische ziekenhuizen sinds 1992



In vergelijking met de MRSA toont de genotypering door middel van *spa* typering een grotere diversiteit onder de MSSA (210 stammen). Eenendertig procent van de MSSA behoort tot de grote epidemische klonen: *spa* CC038 (voorheen PFGE B2) ST45 (15%); *spa* CC008 (voorheen A20) ST8 (6%), *spa* CC2 (voorheen PFGE G10 of C3) ST5 (10%). De rest van de stammen behoort tot *spa* CC084 (13%), *spa* CC012 ST30 (12%), *spa* CC166 (5%) of tot 9 andere *spa* CC en 16 singletons. Vier MSSA-stammen (1,9%) die genotypische karakteristieken vertonen (*spa* CC011-ST398) van de MRSA-stammen aangetroffen bij kweekdieren zijn opgespoord bij 4 patiënten opgenomen in ziekenhuizen gevestigd in Brussel (n=1) of Wallonië (n=3).

Conclusies

In vergelijking met de voorgaande jaren neemt het aantal gevallen van PVL-positieve MRSA dat jaarlijks wordt gerapporteerd toe: 82 gevallen in 2011, 62 in 2010, 48 in 2009, 43 in 2008 en van 2005 tot 2007 zijn er 25 à 30 geteld. Het aantal stammen behorend tot de MRSA-kloon ST80-SCCmec IV, overheersend in Europa, is stabiel gebleven in vergelijking met 2010 maar daalt in vergelijking met voorgaande jaren. Het aantal stammen van CA-MRSA behorend tot kloon ST8-SCCmec IV USA-300 neemt integendeel heel duidelijk toe. De stammen behorend tot deze kloon USA300 zijn verantwoordelijk geweest voor talloze infecties van de huid en de weke weefsels (abcessen, furunkels, impetigo en cellulitis). Het aantal gevallen van PVL-positieve MSSA aangetroffen in 2011 is stabiel in verhouding tot de 2 vorige jaren, 28 gevallen versus 21 gevallen in 2010 en 31 gevallen in 2009. Deze PVL-positieve MSSA-stammen behoren voornamelijk tot kloon ST30.

Wat betreft de MRSA in zorginstellingen toont de genotypering dat de MRSA-stammen in het kader van lokale enquêtes geassocieerd met epidemieën/gegroepeerde gevallen in onze ziekenhuizen voornamelijk behoren tot de epidemische nosocomiale klonen B2-ST45, A20-ST8 en C of G-ST5.

In het kader van de Europese enquête over de klonale diversiteit van de stammen van *S. aureus* verantwoordelijk voor bacteriëmieën hebben de 18 deelnemende ziekenhuizen de MRSA en MSSA-stammen correct geïdentificeerd (> 92%). De genotypering door middel van *spa* typering wijst op de aanwezigheid van de 3 grote genotypes onder de MRSA-stammen met meer dan 89% van de stammen: *spa* CC008- ST8 (pulsotype A20), *spa* CC740- ST45 (pulsotype B2) en *spa* CC002- ST5 (pulsotypes C en G). De MSSA-stammen tonen echter een grote klonale diversiteit.

In de laatste nationale surveillance van MRSA en MSSA in de Belgische ziekenhuizen stellen wij de daling vast van de nosocomiale verwervingen van MRSA in vergelijking met de voorgaande enquêtes. De MRSA-stammen zijn nu gevoeliger voor antibiotica dan voorheen. De genotypering toont een overheersing van de genotypes B2 ST45-SCC*mec* IV en A20 ST8-SCC*mec* IV. Deze twee klonen zijn nog wijd verspreid in de Belgische ziekenhuizen en zijn frequent verantwoordelijk geweest voor lokale epidemieën, in 2011 door het referentielaboratorium bevestigd. De PVL-positieve MRSA, vooral behorend tot de kloon CA-MRSA USA300 ST8-SCC*mec* IV, zijn zelden (<1%) geïsoleerd in ziekenhuizen gevestigd in Wallonië en Vlaanderen.

Bij mannen stellen wij een beetje vaker dan voorheen MRSA-stammen vast van het type ST398 van dierlijke oorsprong. Deze stammen zijn aangetroffen in Vlaanderen, bij personen die in het algemeen met dieren in contact komen, zoals kwekers van varkens en kalveren evenals dierenartsen. Er zijn ook MSSA-stammen aangetroffen met dezelfde genotypische karakteristieken als de dierlijke stammen van MRSA ST398. MRSA-stammen van dierlijke oorsprong worden sporadisch in onze ziekenhuizen geïsoleerd.

Referenties

Deplano A, Witte W, van Leeuwen WJ, Brun Y, Struelens MJ. Clonal dissemination of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Belgium and neighboring countries. *Clin Microbiol Infect* 2000 (6):239-245.

Denis O, Deplano A, Nonhoff C, De Ryck R, de Mendonça R, Rottiers S, Vanhoof R, Struelens MJ. National surveillance of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Belgian hospitals indicates rapid diversification of epidemic clones. *Antimicrob. Agents Chemother* 2004 (48):3625-3629.

Denis O, Deplano A, De Beenhouwer H, Hallin M, Huysmans G, Garrino MG, Glupczynski Y, Malaviolle X, Vergison A, Struelens MJ. Polyclonal emergence and importation of community-acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains harbouring Panton-Valentine leukocidin genes in Belgium. *J. Antimicrob. Chemother* 2005 (56):1103-1106.

Denis O, Deplano A, Nonhoff C, Hallin M, De Ryck R, Vanhoof R, de Mendonça R, Struelens MJ. In Vitro activities of ceftazidime, tigecycline, daptomycin and 19 other antimicrobials against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from a national survey of Belgian Hospitals. *Antimicrob. Agents Chemother* 2006 (50):2680-2685.

Denis O, Suetens C, Hallin M, Catry B, Ramboer I, Dispas M, Willems G, Gordts B, Butaye P, Struelens MJ. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in swine farm personnel, Belgium. *Emerg Infect Dis*. 2009 (15):1098-101.

Denis O, Jans B, Deplano A, Nonhoff C, De Ryck R, Suetens C, Struelens M.J. Epidemiology of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among residents of nursing homes in Belgium. *J. Antimicrob. Chemother* 2009
doi:10.1093/jac/dkp345.

C. Garcia-Graells, J. Antoine, J Larsen, B. Catry, R. Skov and O. Denis. Livestock veterinarians at high risk of acquiring methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398. *Epidemiol. Infect.* 2012 140:383-9.

Hallin M, Deplano A, Denis O, De Mendonça R, De Ryck R, Struelens MJ. Validation of pulsed-field gel electrophoresis and *spa* typing for long term, nation-wide epidemiological surveillance studies of *Staphylococcus aureus* infections. *J. Clin. Microbiol* 2007 (45): 127-133.

Hallin M, Denis O, Deplano A, de Mendonca R, De Ryck R, Rottiers S, Struelens MJ. Genetic relatedness between methicillin-susceptible and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: results of a national survey. *J. Antimicrob. Chemother* 2007 (59): 465-472.

Naessens R, Ronsyn M, Druwé P, Denis O, Ieven M, Jeurissen A. Central nervous system invasion by community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: case report and review of the literature. *J Med Microbiol* 2009 (58):1247-51.

Nemati M, Hermans K, Lipinska U, Denis O, Deplano A, Struelens MJ, Devriese LA, Pasmans F, Haesebrouck F. Antimicrobial resistance of old and recent *Staphylococcus aureus* isolates from poultry: first detection of livestock-associated methicillin-resistant strain ST398. *Antimicrob. Agents Chemother* 2008 (52): 3817-3819.

S. Vandendriessche, M. Hallin, B. Catry, B. Jans, A. Deplano, C. Nonhoff, S. Roisin, R. De Mendonça, M.J. Struelens, O. Denis. Previous healthcare exposure is the main antecedent for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage on hospital admission in Belgium. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2012 31:2283-92.

Vancraeynest D, Haesebrouck F, Deplano A, Denis O, Godard C, Wildemaue C, Hermans K. International dissemination of a high virulence rabbit *Staphylococcus aureus* clone. *J. Vet. Med* 2006 (53): 418-422.

Van den Eede A, Martens A, Lipinska U, Struelens MJ, Deplano A, Denis O, Haesebrouck F, Gasthuys F, Hermans K. High occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in equine nasal samples. *Vet. Microbiol* 2009 (133):138-44.

Anonyme. Le *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (MRSA) en médecine vétérinaire : situation actuelle Folia Veterinaria 2008 volume 1. Disponible à l'adresse suivante <http://www.cbip-vet.be/fr/frinfos/frfolia/08FVF1b.pdf>

Anonyme. *Staphylococcus aureus* méticillino-résistant associé à l'élevage. Folia Pharmacotherapeutica. 2008 volume 8. Disponible à l'adresse suivante <http://www.cbip.be/PDF/Folia/2008/P35F08E.pdf>