

## CAT: MRSA screening met MRSA select van BioRad

Author: Dr. Pascale Wallemacq

Supervisor: Dr. Bart Gordts

Search verified by: Dr. Bart Gordts

Date: 01/07/2006

### Clinical Bottom Line

MRSA is een methicilline resistente staphylococcus aureus, die voor het eerst in 1961 geïdentificeerd werd. Sindsdien heeft de kiem zich wereldwijd verspreid en is verantwoordelijk voor vaak serieuze tot soms lethale infecties. MRSA's zijn MSSA's die het MecA gen hebben verworven. Het MecA gen codeert voor resistentie tegen alle  $\beta$ -lactam antibiotica. MRSA's zijn ook vaak resistent tegen een brede waaier van andere klassen antimicrobiële agenten en kunnen dus vaak nog enkel met vancomycine worden behandeld<sup>(3)</sup>.

Naast deze **toenemende resistentie** is de incidentie van de kiem en de snelle overdracht ervan een belangrijk probleem. De **incidentie** van MRSA in Europa vertoont een Noord- Zuid gradiënt. De SENTRY-studie rapporteert een incidentie van MRSA van 2 % in Nederland en Zwitserland en van 58% in Italië (zie addendum 1)<sup>(4)</sup>.

De MRSA-problematiek is een epidemiologische uitdaging door het symptoomloos dragerschap enerzijds en een **snelle overdracht** via contact anderzijds<sup>(5,6)</sup>. MRSA-dragers vormen een belangrijk reservoir voor verdere verspreiding van de kiem. Dragerschap kan daarenboven enkel aan de hand van een actief screeningsbeleid en een laboratoriumdiagnose worden opgespoord en bevestigd<sup>(6)</sup>. De tot nog toe gekende screeningstesten zijn de kweek, MRSA-screen latex agglutinatietest en de PCR ter detectie van het MecA gen. De PCR-methode is de gouden standaard<sup>(2)</sup>. Sinds kort zijn er nieuwe, gecommmercialiseerde selectieve MRSA-bodems beschikbaar die al na 24 uur een betrouwbaar resultaat kunnen verschaffen.

**In deze studie** hebben we de MRSAselect bodems van Biorad vergeleken met de klassieke screeningsmethode zoals tot nog toe in het laboratorium in het AZ St. Jan te Brugge gebruikt werd. Onze studieresultaten lieten ons niet toe van duidelijke uitspraken te doen omtrent de *gevoeligheid en specificiteit* van de MRSAselect platen, doch rapporteert de literatuur waarden van 100 % voor de gevoeligheid en van 99.8 % tot 100 % voor de specificiteit. Daarnaast stelden we vast dat de MRSAselect platen van Biorad een belangrijke bijdrage leveren tot de kostenvermindering voor het laboratorium enerzijds door een aanzienlijke vermindering van de hands-on time en een winst in lead time en voor het ziekenhuis anderszijds.

### Clinical/diagnostic scenario

Zoals hierboven reeds vermeld, is MRSA een **wereldwijde problematiek**. In Europa zijn 25% van alle isolaten positief voor MRSA en er is een hogere prevalentie in Zuid- Europa<sup>(4)</sup>. Een vergelijking van de incidentie van MRSA tussen 1994 en 2001 toont aan dat landen met een hoge incidentie in 1994 gelijkaardige incidentiecijfers vertonen in 2001 (zie addendum 2). Mogelijks heeft dit te maken met de geografische variatie in virulentie en kolonisatie-eigenschappen van de MRSA-strengen of met de verschillen in antibioticagebruik of met de verschillen in ziekenhuishygiënisch beleid.

De incidentiecijfers voor de VS zijn vergelijkbaar met deze van Europa. In Japan echter rapporteert men incidentiecijfers die tweemaal zo hoog liggen.

Volgens de SENTRY studie van 2001, is 34.4% van de MRSA-isolaten afkomstig van patiënten met nosocomiale pneumonie, 28.3 % in isolaten van patiënten met urineweginfecties, 23.8% van patiënten met positieve bloedkweken en 22.4% van patiënten met huid- en weefselinfecties. Deze studie rapporteert tevens een belangrijk verschil in incidentie tussen de verschillende ziekenhuisdepartementen: 38% MRSA positieve isolaten op de Intensieve Zorgeneenheden, 22.6% op de dienst interne geneeskunde en 0 % op spoed en 1 % op de raadpleging. In de "European Prevalence of Infection in Intensive Care Study" worden incidentiecijfers voor MRSA van 81% in Italië en van 78% in Frankrijk op de intensieve zorgeneenheden gerapporteerd. Men kan dus stellen dat kritisch zieke patiënten een groter risico op kolonisatie en infectie hebben<sup>(3,4)</sup>.

De **methicilline-resistentie** van de MRSA berust op het verwerven van het MecA gen en integratie ervan in de chromosomen. Het MecA gen is gelokaliseerd op een mobiel genetisch element, de stafylokokken chromosomale cassette mec (SSCmec). Het MecA gen is, zoals hier supra reeds vermeld, verantwoordelijk voor de resistentie tegen alle  $\beta$ -lactam antibiotica. Die resistentie komt tot stand door de synthese van een gewijzigde PBP, de PBP2a. De PBP zijn membraangebonden DD-peptidasen, die tot serineproteasen zijn geëvolueerd en dezelfde mechanische activiteit vertonen als de serineproteasen. Deze enzymen katalyseren de transpeptidatiereactie die de peptidoglycanen van de bacteriële celwand crosslinken<sup>(3,4,8)</sup>. (Zie addendum 3)

De  $\beta$ -lactam antibiotica zijn substraatanalogen, die op covalente wijze aan de PBP-actieve plaats serine binden en het enzym inactiveren. Daar de PBP 1, 2 en 3 (, die een hoge affiniteit vertonen voor de  $\beta$ -lactam antibiotica), essentieel zijn voor de celgroei en de overleving van de cel, zal binding van de  $\beta$ -lactam antibiotica aan deze PBP lethaal zijn. In de MRSA strengen codeert het MecA gen voor een gewijzigde PBP, namelijk PBP2a, die een lage affiniteit vertoont voor de  $\beta$ -lactam antibiotica. Deze PBP2a kan de functie van de PBP1,2 en 3 overnemen bij antibioticaconcentraties die anders lethaal zouden zijn<sup>(8)</sup>. Ook de fem genen, femA, femB, femC, femD, femE en femF, spelen een rol bij de peptidoglycaansynthese en zijn tevens noodzakelijk voor de expressie van een homogene methicillineresistentie.

Daarnaast zijn er ook nog andere genen, namelijk de gyrA-, de grlA-, blaZ-, de ermA, B en C genen en andere, die MRSA 's resistentie kunnen verschaffen tegen een brede waaier van antimicrobiële middelen<sup>(7)</sup>.

De toenemende resistentie alsook de snelle verspreiding van de MRSA via contact, dwingen er ons toe steeds snellere en betere detectiemethodes te ontwikkelen om zo snel als mogelijk de correcte ziekenhuishygiënische maatregelen te kunnen treffen. De tot nog toe gehanteerde screeningsmethodescreeningmethode in AZ St-Jan te Brugge was omslachtig en tijdrovend. Slechts na minstens vier dagen kon men een screeningsresultaat definitief beantwoorden en kon een MRSA-drager op adequate wijze worden geïsoleerd. Dit betekende dat de patiënt gedurende minstens 4 dagen zonder de nodige contactmaatregelen verpleegd werd en een potentieel reservoir was voor zijn kamergenoten en voor de andere patiënten.

## Questions

1. Waarom een snelle MRSA detectie?
2. Wat is de diagnostische waarde van de MRSA select van Biorad ten opzichte van de klassieke laboratoriummethode?
3. Wat zijn de kosten/ baten van een snelle MRSA detectie?

## Search terms

**Zoektermen:** MRSA [MeSH], MRSA and infection [MeSH], MRSA and epidemiology [MeSH], MRSA and laboratory tests [MeSH], Community acquired MRSA [MeSH], VISA [MeSH], MRSA and guidelines [MeSH]

**Database:** - Medline (Pubmed 1966-2004) - <http://www.healthservices.gov.bc.ca>  
- <http://www.google.com> - <http://www.cdc.gov>  
- Cochrane Library, sumsearch

## Relevant Articles/References

1. Guidelines: Guidelines for control and prevention of methicillin resistant Staphylococcus aureus transmission in Belgian Hospitals. GDEPIH- GOSPIZ
2. Review: Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus: Comparison of Susceptibility Testing Methods and Analysis

- of *mecA*-positive Susceptibility Strains. George Sakoulas, Howard S.Gold, Lata Venkataraman *et al.*, *Journal of Clinical Microbiology*, Nov. 2001,p. 3946-3951
3. Original: Epidemiology of methicillin-resistant staphylococci in Europe. S.Stefani en P.E.Varaldo, *Clinical Microbiology and Infection*, Volume 9 Number 12, December 2003
  - 1.4. Original: Epidemiology and Susceptibility of 3051 *Staphylococcus aureus* Isolates from 25 University Hospitals Participating in the European Sentry Study. A.C. Fluit, C.L.C. Wienders, J.Verhoef and F-J Schmitz, *Journal of Clinical Microbiology*, Oct.2001, p.3727-3732
  - 2.5. Original: Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Epidemiology and Control in Belgian Hospitals, 1991 to 1995. Marc J.Struelens, MD,PhD, Olivier Ronveaux, MD *et al.*, *Infection Control and Hospital Epidemiology* 1996 ;17 :503-508
  6. Original: Automatic Alerts for Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Surveillance and Control: Role of a Hospital Information System. Didier Pittet, MD, MS;Edith Safran, MD *et al.*, *Infection Control and Hospital Epidemiology* 1996 ;17:496-502
  - 3.7. Original: Antibiotic Resistance in Gram-positive bacteria: epidemiological aspects. Wolfgang Witte, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* ( 1999) 44, TopicA, 1-9
  - 4.8. Original: Methicillin Resistance in Staphylococci: Molecular and Biochemical Basis and Clinical implications. Henry F. Chambers, *Clinical Microbiology reviews*, Oct. 1997, p.781- 791
  - 5.9. Original: Use of Oligoarrays for characterization of Community-Onset Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. Thibaud Koessler, Patrice François *et al.*, *Journal of Clinical Microbiology*, Mar. 2006, p. 1040-1048
  - 6.10. Original: Spread of a Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* ST80-IV clone in a Danish Community. Tinna Urth; Gitte Juul *et al.*, *Infection Control and Hospital Epidemiology* 2005;26:144-149
  - 7.11. Original: Prevalence of and Risk Factors For Colonization With Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* in an Outpatient Clinic Population. John A. Jernigan, MD, MS; Amy L.Pullen, MPH *et al.* *Infection Control and Hospital Epidemiology* 2003; 24:445-450
  - 8.12. Original: Prevalence of and Risk Factors For Colonization With Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* at the time of Hospital Admission. John A. Jernigan, MD, MS; Amy L.Pullen, MPH *et al.* *Infection Control and Hospital Epidemiology* 2003; 24:409-414
  - 9.13. Original: Nosocomial Transmission of Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus*: A Blinded Study to Establish Baseline Acquisition Rates. Joel T. Fishbain,MD; Joseph C. Lee, MD *et al.* *Infection Control and Hospital Epidemiology* 2003; 24: 415-421
  - 10.14. Original: Clinical and Epidemiologic Features of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Elderly Hospitalized Patients. Andrew E. Simor, MD *et al.* *Infection Control and Hospital Epidemiology* 2005;26:838-841
  - 11.15. Original: Rates of Carriage of Methicillin-Resistant and Methicillin-Susceptible *Staphylococcus Aureus* in an Outpatient Population. Julie Kenner, MD; Tasha O' Connor, MD *et al.* *Infection Control and Hospital Epidemiology* 2003; 24: 439-444
  16. Original: Personal Hygiene and Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Infection. George Turabelidze, Mei Lin *et al.* *Emerging Infectious Disease*,2006; 12, n°3: 422-427
  17. Original: Impact of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections on key health economic outcomes: does reducing the length of hospital stay matter? Natawani D. *J Antimicrob Chemother.* 2003 May;51 Suppl 2:ii37-44
  18. Original: The Economic Impact of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Canadian Hospitals. Tony Kim, MA *et al.* *Infection Control and Hospital Epidemiology* 2001; 22:99-104
  19. Original: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: acquisition and risk of death in patients in the intensive care unit. Ibelings MM, Bruining HA. *Eur J Surg.* 1998 Jun;164(6):411-8.
  20. Original: Salt tolerance of EMRSA-16 and its effect on the sensitivity of screening cultures. E.M. Jones, K.E.Bowker *et al.* *Journal of Hospital Infection.* 1997; 35: 59-62
  21. Poster: A blinded comparison of four media for rapid MRSA detection. K.Orange, D.G.Pillay, P.De, K.Burrows, *Microbiology.* Good hope Hospital NHS Trust
  22. Poster: Evaluation of MRSAselect: a new chromogenic medium for the detection of nasal carriers of Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Ben Nsira S., Leclercq R. Department of Microbiology, University Hospital Cote de Nacre, Caen

## Appraisal

### 1. Waarom een snelle MRSA detectie?

#### De toenemende resistentie

De SENTRY studie van 2001 heeft het resistentiepatroon van 3051 MRSA's van over heel Europa bestudeerd. MRSA-kiemen zijn steeds resistent aan alle  $\beta$ -lactam antibiotica. Wat de resistentie tegenover andere antimicrobiële agentia betreft, werd vastgesteld dat slechts 9.2% van alle MRSA's nog gevoelig zijn aan de quinolones, 4.8% aan erythromycine en 23.3% aan clindamycine. De studie rapporteert een gevoeligheid van 100% tegenover vancomycine voor alle geteste MRSA stammen<sup>(4)</sup>. (Zie addendum 4)

MRSA's met een intermediaire resistentie tegenover de glycopeptiden komen voor in Japan en in de VS. In Europa, zijn er slechts enkele in Duitsland en in Frankrijk gerapporteerd<sup>(7)</sup>. In de VS werd zeer recentelijk een MRSA-stam ontdekt, die het vanA gen van de VRE's (vancomycine resistente enterokokken) had verworven. Het VanA gen verschaft resistentie tegen vancomycine. De vrees voor de toekomst is het op brede schaal verwerven van het vanA gen door de MRSA, wat het therapeutische arsenaal drastisch zou verminderen<sup>(3)</sup>.

#### Community acquired MRSA

Zoals hierboven vermeld, wordt MRSA hoofdzakelijk noscomiaal verworven. In de SENTRY studie bedraagt de incidentie op de spoedgevallen en op de raadpleging respectievelijk 0 % en 1 %, wat een zeer lage incidentie van **niet-nosocomiaal** verworven MRSA's reflecteert.

Community-acquired MRSA's onderscheiden zich van noscomiaal verworven MRSA's door:

- Aanwezigheid van een SCCmec type IV of V, in tegenstelling tot nosocomiaal verworven MRSA's die een SCCmec type I, II of III vertonen
- Antibioqram: Community acquired MRSA's zijn altijd resistent tegen penicilline en oxacilline en gevoelig aan de meeste andere antimicrobiële agentia<sup>(10)</sup>
- De mogelijke expressie van het Panton-Valentine Leukocidin gen<sup>(9)</sup>
- (Zie addendum 5)

Een Deense studie volgde de verspreiding van een community-acquired MRSA ST80-IV-kloon, positief voor het Panton-Valentine-leukocidin gen in de gemeenschap tussen 1997 en 2003. Bij de aanvang van de studie waren er slechts twee patiënten positief voor MRSA. Ze presenteerden zich met abscessen. In 2003 waren er in totaal 46 personen opgenomen in studie. Van die 46 personen, waren er 35 mensen (76%) geïnfecteerd en 11(24%) mensen gekoloniseerd. De wijze van overdracht is in volgende tabel weergegeven.

Tabel 1 - Wijze van overdracht community-acquired MRSA ST80-IV-kloon

	Totaal	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003
<b>Aantal huishouden</b>	26	1	4	1	4	9	6	1
<b>Aantal personen</b>	46	3	11	2	7	14	7	2
<b>Transmissieroutes</b>								
<b>Intrafamiliale verspreiding</b>	26	2	9	1	5	6	2	1
<b>Crèche of school</b>	4	1	1		1	1		

<b>Werk</b>	4				1	2	1	
<b>Arts-specialist</b>	2					2		
<b>Gezondheidszorg</b>	1							1
<b>Contacten</b>	4		1			2	1	
<b>Onbekend</b>	5			1		1	3	

De 35 geïnfecteerde individuen vertoonden abcessen, die recidiverend waren bij 19 gevallen. De enige manifestaties ter hoogte van het respiratoire stelsel waren: sinusitis, otitis media en rhinitis. Bij 10 gevallen was er een onderliggende pathologie: recurrerende huidinfecties met *S. aureus*, eczema, litteken, chronische sinusitis, otitis, rhinitis en diabetes mellitus.:

Deze studie toont aan dat MRSA ST80- IV de capaciteit heeft om zich in de gemeenschap te verspreiden en besmettelijk is binnen de families, op het werk, op school, in de crèche, ... In Denemarken zijn ze er in geslaagd om deze kleine epidemie volledig uit te roeien dank zij een actieve opsporing van alle besmette gevallen en drastische desinfectie- en decontaminatiemaatregelen. De studie trekt onze aandacht op de mogelijke implicaties van een disseminatie van MRSA binnen de gemeenschap en op de mogelijke gevolgen ervan <sup>(10)</sup>.

De 35 geïnfecteerde individuen vertoonden abcessen, die recidiverend waren bij 19 gevallen. De enige manifestaties ter hoogte van het respiratoire stelsel waren: sinusitis, otitis media en rhinitis. Bij 10 gevallen was er een onderliggende pathologie: recurrerende huidinfecties met *S.aureus*, eczema, litteken, chronische sinusitis, otitis, rhinitis en diabetes mellitus.

Deze studie toont aan dat MRSA ST80- IV de capaciteit heeft om zich in de gemeenschap te verspreiden en besmettelijk is binnen de families, op het werk, op school, in de crèche, ... In Denemarken zijn ze er in geslaagd om deze kleine epidemie volledig uit te roeien dank zij een actieve opsporing van alle besmette gevallen en drastische desinfectie en decontaminatiemaatregelen. De studie trekt onze aandacht op de mogelijke implicaties van een disseminatie van MRSA binnen de gemeenschap en op de mogelijke gevolgen ervan <sup>(9)</sup>.

### **Dragerschap**

Jernigan *et al.* probeerden aan de hand van hun studies de meest voorkomende risicofactoren voor MRSA-dragerschap bij opname samen te vatten. De auteurs rapporteerden een prevalentie voor MRSA-dragerschap bij opname van 2.7 tot 3 %.

De geïdentificeerde risicofactoren voor dragerschap worden hieronder samengevat:

1. In het jaar voor actuele opname:
  - a. Een hospitalisatie van > 5 dagen
  - b. Een opname in een rust- en verzorgingstehuis
  - c. Een opname in een centrum voor revalidatie
2. MRSA kolonisatie in de medische voorgeschiedenis
3. Antibiotica bij actuele opname
4. Een onderliggende aandoening die een regelmatige follow-up en dus contact met de verzorgingssector vereisen (COPD, Diabetes mellitus, diverticulosis, astma, enz.) <sup>(11,12,13)</sup>

Daarnaast toonde Andrew E. Simor *et al.* aan dat 66 % van MRSA dragers ouder dan 65 jaar zijn <sup>(14)</sup>. MRSA dragerschap bij opname wordt vaak ten onrechte als community acquired MRSA bestempeld, doch uit deze studie blijkt dat heel wat patiënten dragers zijn van een nosocomiaal verworven MRSA bij opname. In geval van een positieve MRSA screening bij opname is een uitvoerige anamnese naar de medische voorgeschiedenis essentieel om een community acquired MRSA van een nosocomiaal verworven MRSA te onderscheiden.

Voor een optimaal screeningsresultaat worden stalen het best ter hoogte van de neus en van de farynx gepreleveerd <sup>(15)</sup>.

## **Snelle overdracht**

Joel. T. Fishbain *et al.* probeerden de MRSA transmissie tijdens een ziekenhuisopname te objectiveren. Hiertoe hebben ze 1077 patiënten gevolgd en gescreend vanaf het moment van opname. Van alle patiënten waren 26.4% van de patiënten MSSA positief en 3.7% MRSA positief bij opname. Van de patiënten die niet-gekoloniseerd waren bij opname, werd 1.7 % positief op MRSA gedurende hun hospitalverblijf. Hieronder worden een aantal risicofactoren voor MRSA-kolonisatie en -infectie tijdens het ziekenhuisverblijf weergegeven <sup>(13)</sup>.

**Tabel 2 - Karakteristieken van patiënten voor MRSA-kolonisatie en infectie tijdens het ziekenhuisverblijf weergegeven**

	Niet- gekoloniseerd tijdens ziekenhuisverblijf	Gekoloniseerd met MRSA tijdens ziekenhuisverblijf
Gemiddelde leeftijd	43.8	62.7
Geslacht	Mannen >vrouwen	Mannen= vrouwen
Gemiddelde duur van opname	5.3 dagen	17.7 dagen
Antibioticagebruik in de 3 laatste jaren	58 %	33 %
Voorafgaande hospitalisatie in ziekenhuis	47%	67%
Voorafgaande opname op de Intensieve Zorgen	28%	50%

In een studie van 2003 toonden George Turabelidze *et al.*<sup>(16)</sup> aan dat persoonlijk hygiëne een belangrijke rol speelt bij de overdracht van MRSA.

Naar aanleiding van een MRSA disseminatie binnen een penitentiair centrum stelden ze het volgende vast: MRSA-patiënten/dragers deelden gemakkelijker hun personalia (nagellak, shampoo) met kamergenoten, vertoonden minder de neiging om eigen gerief of bedlinnen te wassen en ze wisten zich en hun handen minder frequent dan de controlegroep.

Deze studie bevestigt de resultaten van Boyce *et al.* die rapporteerde dat 73% van de kamers van patiënten met een MRSA infectie en 69% van de kamers van MRSA-dragers omgevingscontaminatie vertoonden. Baggett *et al.* toonden eveneens aan dat gecontamineerde oppervlaktes en gedeelde objecten een potentiële bron zijn van transmissie.

Calfee *et al.* rapporteerden een 7.5 maal groter risico op kolonisatie voor individuen die zeer nauw in contact komen met MRSA-dragers of geïnfecteerde individuen.

## **Mortaliteit**

In volgende tabel <sup>(19)</sup> wordt een vergelijking van de mortaliteit tussen MSSA en MRSA weergegeven. :

**Tabel 5: Mortaliteitspercentage volgens de plaats van MRSA- en MSSA- IZ-verworven infecties.  
Odds ratio van overleving bij MRSA-infecties vergeleken met MSSA-infecties (Ibelings en  
Bruining, 1998)**

plaats	Mortaliteit (%)	Odds ratio	95% BI	p-waarde
<b>Epic overall</b>	16,8			
MRSA	32,4	0,7	0,47-1,06	0,09
MSSA	25,0			
<b>Wond infectie</b>		0,59	0,11-3,20	0,54
MRSA	26,7			
MSSA	17,6			
<b>Bacteriëmie</b>		0,68	0,17- 2,74	0,59
MRSA	26,9			
MSSA	20,0			
<b>Pneumonie</b>		0,82	0,46-1,45	0,50
MRSA	33,3			
MSSA	29,1			
<b>Urineweginfectie</b>		3,0	0,24-37,58	0,39
MRSA	14,3			
MSSA	33,3			
<b>Lage respiratoire tractus</b>		0,35	0,13-0,94	0,04
MRSA	45,7			
MSSA	22,9			

Men stelt vast dat de mortaliteit ten gevolge van een MRSA infectie steeds hoger ligt dan deze voor een MSSA infectie, behalve in geval van urineweginfecties. Mogelijks heeft dit deels ook te maken met het feit dat, zoals hier supra reeds vermeld, de gemiddelde leeftijd voor MRSA-dragerschap en -infectie hoger ligt dan deze voor de MSSA's. Meestal gaat het hier ook om patiënten met een onderliggende aandoening, die dus zwakker zijn.

**Tabel 53** Mortaliteitspercentage volgens de plaats van MRSA- en MSSA- IZ-verworven infecties.  
**Odds ratio van overleving bij MRSA-infecties vergeleken met MSSA-infecties (Ibelings en Bruining, 1998)**

plaats	Mortaliteit (%)	Odds ratio	95% BI	p-waarde
<b>Epic overall</b>	16,8			
MRSA	32,4	0,7	0,47-1,06	0,09
MSSA	25,0			
<b>Wond infectie</b>		0,59	0,11-3,20	0,54
MRSA	26,7			
MSSA	17,6			
<b>Bacteriëmie</b>		0,68	0,17- 2,74	0,59
MRSA	26,9			
MSSA	20,0			
<b>Pneumonie</b>		0,82	0,46-1,45	0,50
MRSA	33,3			
MSSA	29,1			
<b>Urineweginfectie</b>		3,0	0,24-37,58	0,39
MRSA	14,3			
MSSA	33,3			
<b>Lage respiratoire tractus</b>		0,35	0,13-0,94	0,04
MRSA	45,7			
MSSA	22,9			

## 2. Wat is de diagnostische waarde van de MRSA select van Biorad ten opzichte van de klassieke screeningsmethode?

Het doel van deze studie is de betrouwbaarheid (gevoeligheid en specificiteit) van de nieuwe selectieve MRSA-bodems van Biorad te testen. Deze bodems laten reeds na 24 uur toe de aanwezigheid van een MRSA in een isolaat te bevestigen. De juiste samenstelling van de platen is niet helemaal gekend, maar men weet dat ze een mengsel van antibiotica, o.a. cefoxitine en antifungica bevatten, die de groei van de meeste gram positieve en gram negatieve bacteriën, alsook van de fungi inhiberen. Ze bevatten tevens een hoge concentratie aan zouten en beschikken over een chromogeen substraat die de MRSA kolonies roos kleurt.

### De gebruikte stalen

Voor de studie werden er 99 stalen gebruikt. De stalen werden geselecteerd op basis van volgende criteria:

- Stalen voor MRSA-screening
- Stalen op een correcte manier afgenomen:
  - o Afname met een wisser
  - o Correct afgesloten midstream urine
- Afkomstig van gekende MRSA-patiënten bij wie de aanwezigheid van MRSA al bevestigd was aan de hand van een MecAgen bepaling.
- Van elk patient werd slechts éénmaal, namelijk bij opname, één of meerdere wissers ( neus of neus en keel of



neus, keel en urine of neus, keel en perineum) getest.

### **Gevolgde procedure**

De tot nog toe gebruikte klassieke screeningsmethode was omslachtig en het duurde minstens 4 dagen voor een betrouwbaar resultaat kon worden doorgegeven. Het verloop van de procedure was als volgt:

- Dag 1: Enten van een aanrijkingsbouillon, waarin Aztreonam (1.2 mg/ml) en Floxapen (0.12 mg/ml) opgelost zijn en met een zoutconcentratie van 6.5%.
- Dag 2: Enten van een bloedplaat vanuit de aanrijkingsbouillon.
- Dag 3: Aflezen van de bloedplaat.
- Indien groei van een coagulase positieve Staphylococcus aureus, bevestigd met de Slidex Staph Plus (Biomerieux), werd de OXA-screen agar geënt of indien nodig een uitzuivering ingezet en de OXA-screen agar vanuit de uitzuivering geënt na 24 uren.
  - Indien er een verdachte kolonie met een twijfelachtige coagulase test aanwezig was, werd er een tube-test ingezet. Indien de tube-test positief was na 4 of na 24 u, werd de kolonie geënt op een OXA-screen agar.
- Dag 4 of 5: Aflezen van OXA-screen agar. Indien groei van de kolonie, werd deze als MRSA positief beantwoordt.

*Tijdens de studie* werden de stalen systematisch dubbel geënt. Men heeft steeds eerst de MRSA-select platen van Biorad en vervolgens het aanrijkingsbouillon geënt. Het enten van de MRSA-select platen verliep als volgt:

- Dag 1: Rechtstreeks enten van een halve MRSA-select bodem.
- Dag 2: Aflezen van de MRSA-select bodems: groei van een roze kolonie
- **coagulase-slide test**: positief → MRSA
  - **coagulase-slide test**: negatief → Tube-test → positief : MRSA
  - Tube-test → negatief : geen MRSA

Voor de coagulase-slide test werd gebruikt gemaakt van de Slidex Staph Plus (Biomerieux).

Enten van MRSA-select platen vanuit de aanrijkingsbouillon

- Dag 3: Aflezen van de platen die op dag 1 en op dag 2 geënt waren. Bij het aflezen werd dezelfde procedure als hierboven beschreven gehanteerd.
- Dag 4: Aflezen van de platen die op dag 2 vanuit het aanrijkingsbouillon geënt waren

### **Resultaten**

De resultaten bekomen bij het aflezen van de klassieke screeningsmethode werden vergeleken met deze van de MRSA-select-platen.

In onderstaande tabellen worden de resultaten weergegeven:

**Tabel 4 – Resultaten :**

	Positief op de MRSA-select bodem	Negatief op de MRSA-select bodem	Totaal
Positief met Referentiemethode	13	1	14
Negatief met referentiemethode	17	68	85
Totaal	30	69	99

Als we de resultaten van beide methodes bekijken, kunnen we stellen dat:

- 1 patiëntenstaal door de MRSAselect platen niet werden gedetecteerd
- 17 patiëntenstalen positief waren met de MRSAselect-platen, doch negatief met de klassieke screeningsmethode.
- 68 patiëntenstalen met beide methodes negatief waren
- 13 patiëntenstalen positief waren met beide methodes

### **Besluit**

We hebben twee studies geraadpleegd die de MRSA-select bodems van Biorad met andere screeningsmethodes hebben vergeleken. In de eerste studie hebben K.Orange *et al.* 4 selectieve MRSA-screeningsmethodes getest en met elkaar vergeleken. De 4 selectieve MRSA-screeningsmethodes waren CHROMagar MRSA (Bioconnections), ORSA agar (OXOID), MRSA select (BIORAD) en Mastascreen MRSA broth (Mast Diagnostics). Hiertoe maakten ze gebruik van 40 gekende isolaten: 18 MRSA's (MecAgen positief), 5 MSSA's, 6 MRCNS en 1 penicillinase hyperproducerende SA. Uit de bekomen resultaten concluderen de auteurs dat de MRSAselect bodems de beste waren met een sensitiviteit en specificiteit van 100% na 24 uur<sup>(21)</sup>.

In de tweede studie hebben B. Nsira *et al.* tevens de MRSAselect platen vergeleken met de andere MRSA selectieve bodems, namelijk ORSAB (OXOID) en OXA-screen. Hiertoe werden 587 nasale wissers van patiënten opgenomen op de afdeling intensieve zorgen (hoge MRSA-prevalentie) bestudeerd. Tijdens de studie, hebben ze alle positieve kweken met een MecAgen bepaling bevestigd. Aan de hand van de bekomen resultaten, werd een sensitiviteit en specificiteit van 100% en 100% respectievelijk voor de OXA-screen agar en van 100% en 99.8% voor de MRSAselect bodems van Biorad berekend<sup>(22)</sup>.

In tegenstelling tot deze auteurs kunnen we geen duidelijke uitspraken doen omtrent de gevoeligheid en specificiteit van de MRSAselect platen van Biorad. Tijdens onze studie zijn we vertrokken van gekende MRSA-dragers bij wie het dragerschap aan de hand van de klassieke screeningsmethode en met de MecA gen bepaling bevestigd werd. De MecA genbepaling wordt in het AZ St- Jan slechts éénmaal om de vijf jaren uitgevoerd. Patiënten bij wie de MecA genbepaling positief was, worden dus systematisch als MRSA positief beschouwd indien de kweek met de klassieke screeningsmethode positief is.

Het betekent concreet dat we, in tegenstelling tot B.Nsira die elke positieve kweek bevestigd heeft met een mecA genbepaling of tot K.Orange die gekende MRSA-stammen getest heeft, niet kunnen zeggen of de positieve kweken *werkelijk* MecA gen positieve MRSA-stammen waren.

B. Nsira rapporteerde in zijn studie slechts 1 vals positief resultaat op de MRSA select platen<sup>(21,22)</sup>, terwijl wij 17 MRSA positieve stalen met de MRSA-select platen rapporteren die niet met de klassieke screeningsmethode konden worden opgespoord en zodoende als 'vals positief' kunnen worden geklasseerd. Voor deze stammen werd geen MecAgen bepaling uitgevoerd om te na te gaan of het al dan niet om *echte MRSA's* ging.

Deze discordantie kan mogelijks ook te wijten zijn aan het feit dat er per patient slechts één wisser gebruikt werd en met dezelfde wisser de MRSAselect bodems systematisch eerst geënt werden en pas daarna het aanrijkingsbouillon. Daar het hier heel waarschijnlijk om echte MRSA's ging, kan men besluiten dat de gevoeligheid en de specificiteit van de MRSAselect platen hoger ligt dan deze van de klassieke screeningsmethode.

Een bijkomende tekortkoming aan onze studie is het feit dat er slechts een beperkte, gekende MecA positieve populatie getest werd en zodoende ook *echte* vals positieven niet adequaat konden worden uitgesloten.

Het grote voordeel van de MRSAselect bodems ten opzichte van de klassieke screeningsmethode berust in het feit dat de resultaten reeds binnen de 24 uur gekend zijn. Tijdens de studie is er slechts één staal positief geworden na 48 uur. In geval van twijfelachtige kolonies (dwz. coagulase-slide test twijfelachtig) kan men nog steeds een tube-test en een DNA-bodem enten ter bevestiging. Een MRSAselect screening kan dan ten laatste binnen de 48 uren definitief beantwoord worden. Gezien er slechts één kolonie gemist werd bij het rechtstreeks enten van de platen en opgespoord werd na incubatie en overenten vanuit de aanrijkingsbouillon, kunnen we stellen dat een aanrijking hier geen gunstig effect heeft op de sensitiviteit en dus overbodig is. Omwille van deze verrassende resultaten hebben we tijdens de studie de zoutconcentratie van de aanrijkingsbouillons herzien en op basis van een studie van E.M. Jones *et al.* de zoutconcentratie tot 2.5% gereduceerd<sup>(20)</sup>. Toch heeft dit niet bijgedragen tot het detecteren van meer MRSA's na aanrijking.

De MRSAselect platen stelden wel een probleem tijdens de aflezing. De MRSA-select bodems zijn voorzien van een chromogeen die de kolonies roos kleurt. Niet MRSA kolonies zijn wit tot heel licht roos. We stelden vast dat sommige MRSA kolonies ook donkerroos tot bordeaux kleuren. Meestal bleek dit na 48 uren meer uitgesproken te zijn. Tijdens de studie hebben we alle kolonies waarbij er enig twijfel was bij de aflezing verder getest met een coagulase slide-test en indien deze laatste negatief of twijfelachtig was met een tube-test. De nodige voorzichtigheid bij de aflezing is dus vereist om MRSA kolonies niet over het hoofd te zien.

### 3. Wat zijn de kosten/ baten van een snelle MRSA detectie?

Over de kost van MRSA voor de gemeenschap zijn er in de literatuur maar schaarse rapporten te vinden. Bij het berekenen van de kost van een MRSA infectie zijn er heel wat factoren die de uiteindelijke kost bepalen: de duur van opname, de morbiditeit en behandeling, de laboratoriumtesten, de verplegingskosten, de isolatiekosten, het gebruik van extra beschermingsmateriaal voor het personeel, de desinfectie van de kamer, het onderhoudspersoneel, enzovoort.

Zoals reeds supra vermeld, gaat een MRSA-infectie meestal gepaard met een langere hospitalisatieduur en een grotere morbiditeit en mortaliteit. Gezien de toenemende resistentie moet een MRSA-infectie veelal met duurdere antibiotica als vancomycine of linezolid behandeld worden. Al snel wordt duidelijk dat MRSA niet alleen een belangrijk klinisch, diagnostisch, therapeutisch en epidemiologisch probleem is, maar ook een **economisch probleem** is. Nathwani *et al.* hebben in 2003 de additionele kost van een nosocomiale MRSA infectie berekend<sup>(17)</sup>. In onderstaand tabel worden de resultaten weergegeven:

**Tabel 6: Verdeling van de additionele ziekenhuiskosten voor een episode van een nosocomiale infectie<sup>1</sup> (Nathwani, 2003)**

<b>Kosten</b>	<b>Aandeel in de additionele kosten (%)</b>
<b>Vaste kosten</b>	30,60
exploitatiekosten	21,34
onkosten	9,26
<b>Hotelkosten</b>	52,04
verpleegkundige zorg	42,36
medische zorg	5,85
paramedici	1,47
fysiotherapie	2,36
<b>Administratieve kosten</b>	2,07
management	2,07
<b>behandelingskosten</b>	15,22
chirurgische interventies	2,16
verzorgingsmateriaal	3,44
testen (microbiologie, pathologie, etc.)	2,98
endoscopie, radiologie	1,34
antimicrobiële therapie	1,83
andere geneesmiddelen	3,47

<sup>1</sup>overgenomen uit Plowman et al.

**Tabel 6: Verdeling van de additionele ziekenhuiskosten voor een episode van een nosocomiale infectie<sup>1</sup> (Nathwani, 2003)**

<b>Kosten</b>	<b>Aandeel in de additionele kosten (%)</b>
<b>Vaste kosten</b>	30,60
exploitatiekosten	21,34
onkosten	9,26
<b>Hotelkosten</b>	52,04
verpleegkundige zorg	42,36
medische zorg	5,85
paramedici	1,47
fysiotherapie	2,36
<b>Administratieve kosten</b>	2,07
management	2,07
<b>behandelingskosten</b>	15,22
chirurgische interventies	2,16
verzorgingsmateriaal	3,44
testen (microbiologie, pathologie, etc.)	2,98
endoscopie, radiologie	1,34
antimicrobiële therapie	1,83
andere geneesmiddelen	3,47
<sup>1</sup> overgenomen uit Plowman et al.	

Tony Kim *et al.* rapporteerden in hun studie de kost te wijten aan een MRSA-infectie over een periode van twee jaar bij 20 patiënten en kolonisatie met MRSA bij 79 patiënten.

De gemiddelde hospitalisatieduur bedroeg 39 dagen, waarvan gemiddeld 28 in isolatie. Gemiddeld waren 14 hospitalisatiedagen per opname toe te schrijven aan de MRSA infectie. De totale kost toe te schrijven aan de MRSA-infecties bedroeg \$ 287.200 met een gemiddelde van \$ 14.360 per infectie. Van de totale extra kost bij een MRSA-infectie is 95% aan de dagelijkse verzorging (verpleging, verblijf in een kamer, linnen, enz.), 4% aan de antimicrobiële therapie en 1% aan de laboratoriumtesten toe te schrijven. Voor de patiënten gekoloniseerd met MRSA bedroeg de gemiddelde ziekenhuisopname 44 dagen, waarvan 21 dagen in isolatie. De kost te wijten aan een MRSA-kolonisatie bedroeg gemiddeld \$ 128.095 met een gemiddelde kost van \$ 1.363 per opname<sup>(18)</sup>.

Deze twee studies illustreren de totale kost van een MRSA-infectie. In de tweede studie wordt tevens de aandacht getrokken op de kost van MRSA-dragerschap. Uit beide studies blijkt dat de grote kost voornamelijk aan de hospitalisatie en daarmee gepaard gaande verpleging-, medische en paramedische zorgen te wijten is. De additionele kost van de laboratoriumtesten bedragen slechts 2,98% en 1% respectievelijk in de studie van Nathwani en van Tony Kim.

Daar de additionele kost van de laboratoriumtesten vrij laag is in verhouding tot de andere kosten, is het zeker interessant van eens stil te staan bij welke maatregelen we in het laboratorium kunnen treffen om de totale additionele kost te verminderen. De eerste haalbare maatregel voor een laboratorium is het zoeken naar een snelle MRSA detectiemethode.

Onze studie heeft de MRSAselect platen van Biorad vergeleken met de klassieke surveillance methode zoals tot nog toe in het laboratorium gebruikt. Daar de MRSAselect platen al na 24 uur een betrouwbaar resultaat geven, kunnen we stellen dat het reeds een deel van het aandeel van de ziekenhuiskosten helpt te besparen: MRSA positieve patiënten kunnen reeds binnen de 24 tot 48 uren worden geïsoleerd en gedecontamineerd. Deze maatregel zorgt op haar beurt voor een aanzienlijke vermindering van de verdere verspreiding van MRSA en dus van het totaal aantal ligdagen of de hotelkosten.

**Wat is de kost van een MRSA-screening voor het laboratorium zelf?**

Als we de kost van een MRSAselect plaat en van de klassieke screeningsmethode met elkaar vergelijken, kunnen we stellen dat MRSAselect bodems economisch voordeliger zijn.

In onderstaand tabel vindt U een korte prijsberekening:

**Tabel 7 – Overzicht kostenplaatje**

<i>Klassieke screeningsmethode</i>	<b>Kostprijs</b>	<i>MRSA select</i>	<b>Kostprijs</b>
Aanrijkingsbouillon (2 ml)	20 x 0,0047 euro = 0.094 euro	MRSAselect	20 x 0.75 euro = 15 euro
Bloedagar (BD)	20 x 0,48 euro = 9.6 euro		
Slidex Staph Plus (Biomerieux)	20 x 0.818 euro = 16.36 euro	Slidex Staph Plus (Biomerieux)	20 x 0.818 euro = 16.36 euro
OXA-screen agar (BD)	20 x 1,175 euro = 23.5 euro		
Prijs van laborant	27 euro/ uur x 1 x 4 dagen = 108 euro	Prijs van laborant	27 euro/uur x 1 = 27 euro
<b>TOTAAL</b>	<b>157,554 euro</b>	<b>TOTAAL</b>	<b>58.36 euro</b>

**Opmerking:** Bij de kostprijsvergelijking tussen beide methodes is men vertrokken van het feit dat een laborant gemiddeld één uur per dag nodig heeft om een 20-tal stalen te enten, af te lezen en te verwerken. Dit komt echter niet overeen met de realiteit aangezien het aantal stalen dagelijks sterk kan variëren. Er werd tevens geen rekening gehouden met de kostprijskostprijs van een tube-test, daar deze slechts zeldzaam ingezet worden om een twijfelachtige coagulase-slide test te bevestigen. Deze berekening kan ons wel een idee geven van het verschil in kost tussen beide methodes.

**Besluit:**

We stellen vast dat de prijs van een laborant per uur verantwoordelijk is voor het grote prijsverschil tussen beide methodes. Het grote voordeel van de MRSAselect platen van Biorad is dat ze in tegenstelling tot de klassieke screeningsmethode reeds na 24 uur een betrouwbaar resultaat verschaffen en dus aanzienlijk bijdragen tot een vermindering van de hands-on time en winst in lead-time van de laboranten. Uit bovenstaand tabel kunnen we dus besluiten dat de MRSAselect platen economisch bijdragen enerzijds tot een *lagere kost voor het laboratorium* en anderzijds tot een *daling van de totale additionele kost voor het ziekenhuis*.

## AddendaAddendum

### Addendum 1 : Origins of *S. aureus* isolates

City	Country	No. of isolates	% MRSA
London	England	131	28

**TABLE 1.** Origins of *S. aureus* isolates

Utrecht	The Netherlands	147	2
Brussels	Belgium	82	25
Düsseldorf	Germany	215	5
Freiburg	Germany	132	4
Lausanne	Switzerland	114	2
Linz	Austria	117	9
Paris I	France	219	25
Paris II	France	119	20
Lille	France	188	12
Lyon	France	192	18
Warsaw	Poland	58	33
Cracow	Poland	101	23
Coimbra	Portugal	318	54
Madrid	Spain	113	12
Seville	Spain	132	34
Barcelona	Spain	107	9
Rome	Italy	145	58
Genoa	Italy	152	43
Tirana	Albania	23	17
Athens	Greece	128	34
Ankara I	Turkey	24	21
Ankara II	Turkey	77	44
Istanbul	Turkey	4	0
Hash Homer	Israel	13	31

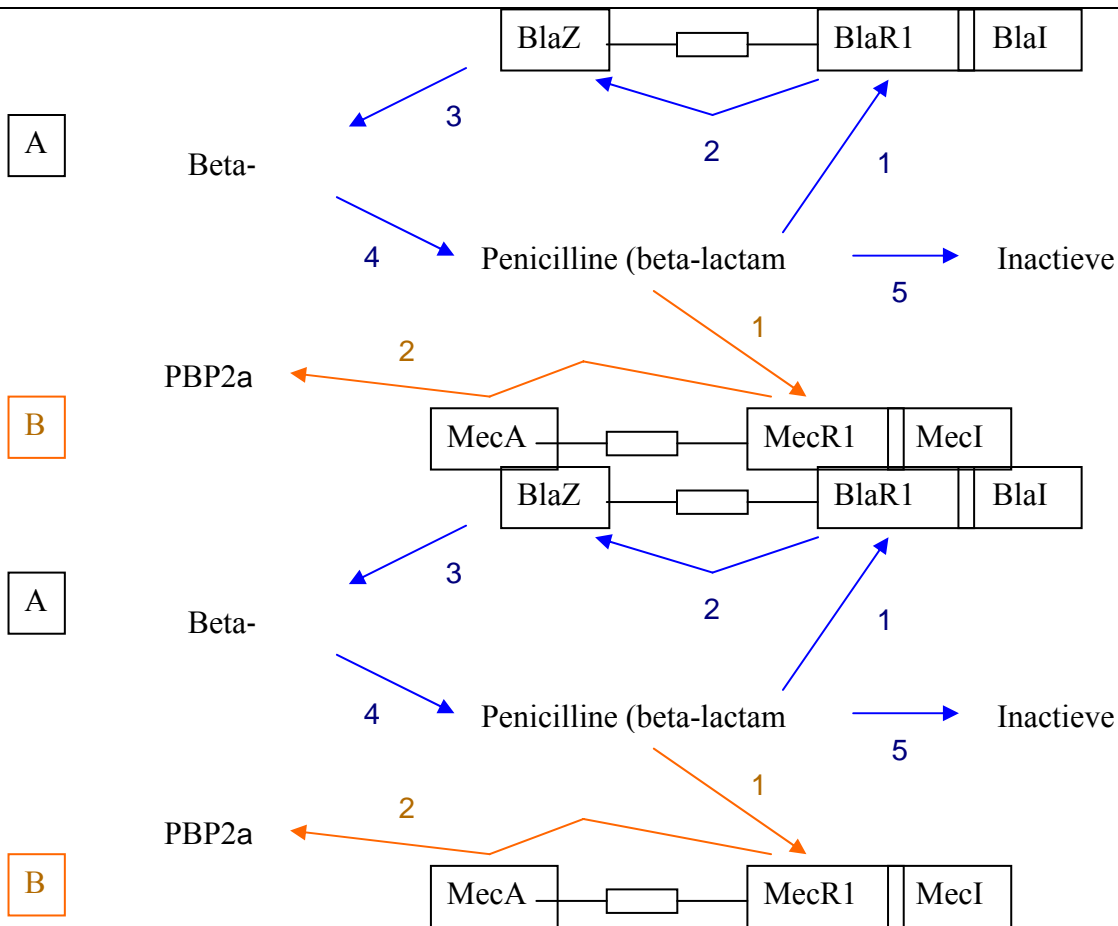
**Addendum 1 :** Origins of *S. aureus* isolates

**Addendum 2 :** Percentages of isolation of MRSA in different European countries

<b>Countries</b>	<b>Periods</b>	<b>Percentages</b>	<b>General trend</b>	<b>References</b>
U.K.	1999–2001	33.4, 39.6, 45.4	General increase	50
	2001	28		17
Denmark	1994	0.1	Steady	15
	1999–2001	0.3, 0.2, 0.8		50
France	1994	33.6	Steady	15
	2001	20, 25		17
	2001	33.4		50
Sweden	1994	0.3	General increase	15
	1999–2001	9, 14		50
Netherlands	1994	1.5	Steady	15
	1999–2001	0.3, 0.4, 0.5		50
	2001	2		17
Germany	1994	5.5	General increase	15
	1999–2001	9.6, 14.4, 17.5		50
	2001	4, 5		17
Austria	1994	21.6	General decrease	15
	2000–01	5.1, 7.6		50
	2001	9		17
Belgium	1994	25.1	Steady	15
	1999–2001	23.1, 20.9, 21.6		50
	2001	25		17
Spain	1994	30.3	Not classifiable	15
	2000–2001	28.1, 23.1		50
	2001	9, 12, 34		17
Italy	1994	34.4	General increase	15
	1999–2001	40.8, 43.9, 41.0		50
	2001	43, 58		17
Greece	1999–2001	36.9, 25.3, 31.9	Steady	50
	2001	34		17
Portugal	1999–2001	36.9, 25.3, 31.9	General increase	50
	2001	54		17



**Addendum 3:** Mechanisme van de methicilline resistentie gemedieerd door het MecAgen  
Haddadin *et al.*, 2002; Lowy, 2003



**A**

1. Blootstelling aan betalactam AB leidt tot activatie van het Bla-R1
2. Geactiveerd bla-R1 induceert de transcriptie van BlaZ
3. BlaZ codeert voor het enzym beta-lactamase

**B**

1. Blootstelling aan penicilline of ander beta-lactam AB leidt indirect tot activatie van het MecR1
2. Geactiveerde MecR1 induceert indirect de synthese PBP2a. PBP2a van is een proteïne met een lage activiteit voor alle beta-lactam antibiotica. Hierdoor kunnen stafylococcen overleven bij blootstelling aan hoge concentraties beta-lactam AB

#### Addendum 4: Antimicrobial susceptibility profiles

TABLE 2. MIC distributions, antimicrobial susceptibilities, and spectra of activity of the different antimicrobial agents tested for the MRSA isolates tested

Antimicrobial agent	No. of isolates for which MIC (mg/liter) is:															MIC <sub>50</sub> /MIC <sub>90</sub>
	<0.03	0.06	<0.12	0.12	0.25	<0.5	0.5	1	2	>2	<4	4	>4	8	>8	
Erythromycin				7	28		40	13	17			7		8	644	>8/>8
Clindamycin				103	60		5	4	1			2		7	572	>8/>8
Gentamicin				21	58		75	6	5			9		16	574	>16/>16
Tetracycline											309			11	444	>8/>8
Doxycycline						300		5	22			150	287			4/aug
Minocycline						132		16	103			74	27			2/apr
Ciprofloxacin	1	9		16	23		9	12	9	605						>2/>2
<a href="#">Gatifloxacin</a>	18	23		19	5		11	79	376	233						2/apr
<a href="#">Trovafloracin c</a>	43	14		7	9		97	255	195	144						1/>4
Rifampin			33		240		9	20	78	334						2/>2
Chloramphenicol			1		1		2	2	10			180		438	130	aug/16
Quinupristin-dalfopristin			24		167		427	111	14			3		12	6	0.5/1
Linezolid <sup>c,d</sup>			0		6		7	166	220			13		0	0	2/feb
Teicoplanin			5		35		158	260	236			63		5	2	1/feb
Vancomycin			1		1		65	493	200			4		0	0	1/feb

<sup>a</sup> A total of 764 MRSA isolates were tested.

<sup>b</sup> MIC<sub>50</sub>/MIC<sub>90</sub>, MICs at which 50%/90% of isolates are inhibited.

<sup>c</sup> Investigational drug. No susceptibility breakpoints are available (10).

<sup>d</sup> Only 412 MRSA isolates were tested, unless indicated otherwise.

**Addendum 4: Gevoeligheidspatroon nosocomiaal versus community-acquired MRSA**

Sampling date (day.mo.y)	Age (yr)	Sex <sup>b</sup>	PV L <sup>c</sup>	SCC - mec type	ST	Result for <sup>a</sup> :										
19.06.2003	66	M	-	I	228	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S
16.05.2003	65	M	-	I	228	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S
14.04.2003	74	M	-	III	239	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	R
22.05.2003	59	M	-	IV	8	R	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S
10.04.2003	26	F	-	IV	8	R	R	S	S	S	S	S	I	S	S	S
08.05.2003	36	M	+	V	152	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S
20.05.2003	37	M	+	V	152	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S
24.08.2003	29	M	+	V	152	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S
24.07.2003	40	M	+	IV	80	R	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S
24.07.2003	9	F	+	IV	80	R	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S
26.02.2003	40	M	+	IV	80	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S
26.02.2003	40	M	+	IV	80	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S
17.02.2003	50	M	+	IV	80	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S
02.08.2003	39	F	+	IV	NT <sup>d</sup>	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S
07.08.2003	73	M	+	IV	80	R	R	R	S	S	S	S	R	R	S	S

<sup>a</sup> Abbreviations: PEN, penicillin; OXA, oxacillin; AMI, amikacin; GEN, gentamicin; NOR, norfloxacin; CLI, clindamycin; ERY, erythromycin; FUS, fusidic acid; MUP, mupirocin; SXT, cotrimoxazole; TET, tetracycline; FOS, fosfomycin; R, resistant; S, susceptible; I, intermediate.

<sup>b</sup> M, male; F, female.

<sup>c</sup> PVL, presence (+) or absence (-) of the Pantone-Valentine leukocidin gene.

<sup>d</sup> NT, nontypeable. Allelic profile is 1.3.1.14.11.51.NT, which matches to 6/7 alleles of ST80. The sequence of the seventh gene, corresponding to allele "4," suggested that this strain is probably a new ST.

#### Addendum 4: Antimicrobial susceptibility profiles

TABLE 2. MIC distributions, antimicrobial susceptibilities, and spectra of activity of the different antimicrobial agents tested for the MRSA isolates tested <sup>a</sup>																	
Antimicrobial agent	No. of isolates for which MIC (mg/liter) is:															MIC <sub>50</sub> /MIC <sub>90</sub> <sup>b</sup>	% Susceptible
	<0.03	0.06	< 0.12	0.12	0.25	< 0.5	0.5	1	2	>2	< 4	4	>4	8	>8		
Erythromycin				7	28		40	13	17			7		8	644	>8/>8	4.8
Clindamycin				103	60		5	4	1			2		7	572	>8/>8	23.3
Gentamicin				21	58		75	6	5			9		16	574	>16/>16	22.8
Tetracycline											309			11	444	>8/>8	42.9
Doxycycline						300		5	22			150	287			4/aug	85.2
Minocycline						132		16	103			74	27			2/apr	92.3
Ciprofloxacin	1	9		16	23		9	12	9	605						>2/>2	9.2
Gatifloxacin <sup>c</sup>	18	23		19	5		11	79	376	233						2/apr	
Trovafloxacin <sup>c</sup>	43	14		7	9		97	255	195	144						1/>4	
Rifampin			33		240		9	20	78	334						2/>2	46.1
Chloramphenicol			1		1		2	2	10			180		438	130	aug/16	83.0
Quinupristin-dalfopristin			24		167		427	111	14			3		12	6	0.5/1	99.5
Linezolid <sup>c,d</sup>			0		6		7	166	220			13		0	0	2/feb	
Teicoplanin			5		35		158	260	236			63		5	2	1/feb	99.7
Vancomycin			1		1		65	493	200			4		0	0	1/feb	100

<sup>a</sup> A total of 764 MRSA isolates were tested.

<sup>b</sup> MIC<sub>50</sub>/MIC<sub>90</sub>, MICs at which 50%/90% of isolates are inhibited.

<sup>c</sup> Investigational drug. No susceptibility breakpoints are available (10).

<sup>d</sup> Only 412 MRSA isolates were tested, unless indicated otherwise.

**Addendum 5: Gevoeligheidspatroon nosocomiaal versus community-acquired MRSA**

Sampling date (day.mo.y)	Age (yr)	Sex <sup>a</sup>	PVL <sup>b</sup>	SCC- <i>mec</i> type	ST	Result for <sup>c</sup> :											
						PEN	OXA	AMI	GEN	NOR	CLI	ERY	FUS	MUP	SXT	TET	FOS
19.06.2003	66	M	–	I	228	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S
16.05.2003	65	M	–	I	228	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S
14.04.2003	74	M	–	III	239	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	R	R
22.05.2003	59	M	–	IV	8	R	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
10.04.2003	26	F	–	IV	8	R	R	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S
08.05.2003	36	M	+	V	152	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
20.05.2003	37	M	+	V	152	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
24.08.2003	29	M	+	V	152	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
24.07.2003	40	M	+	IV	80	R	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	S
24.07.2003	9	F	+	IV	80	R	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	S
26.02.2003	40	M	+	IV	80	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S
26.02.2003	40	M	+	IV	80	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S
17.02.2003	50	M	+	IV	80	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S
02.08.2003	39	F	+	IV	NT <sup>d</sup>	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S
07.08.2003	73	M	+	IV	80	R	R	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S

<sup>a</sup> M, male; F, female.

<sup>b</sup> PVL, presence (+) or absence (–) of the Panton-Valentine leukocidin gene.

<sup>c</sup> Abbreviations: PEN, penicillin; OXA, oxacillin; AMI, amikacin; GEN, gentamicin; NOR, norfloxacin; CLI, clindamycin; ERY, erythromycin; FUS, fusidic acid; MUP, mupirocin; SXT, cotrimoxazole; TET, tetracycline; FOS, fosfomycin; R, resistant; S, susceptible; I, intermediate.

<sup>d</sup> NT, nontypeable. Allelic profile is 1.3.1.14.11.51.NT, which matches to 6/7 alleles of ST80. The sequence of the seventh gene, corresponding to allele "4," suggested that this strain is probably a new ST.

