

**S. AUREUS NASAAL DRAGERSCHAP BIJ AMBULANTE
PREOPERATIEVE PATIËNTEN: EVALUATIE VAN CHROMID
MRSA/CHROMID S. AUREUS BIPLATE (BIOMÉRIEUX) VOOR
DE DETECTIE VAN MRSA EN MSSA IN NASAAL SCREENING
STALEN.**



Marina Mukovnikova
UZ Leuven
04/02/2014

S.aureus nasaal dragerschap en risico op POWI

- Neusholte is de frequentste kolonisatieplaats.
Nasaal dragerschap:
 - persistent- 20% (bereik 12-30%), intermitterend-30% (16-70%)
- Studie (2013): 9 Europese landen, 32 206 gezonde ambulante patiënten:
 - prevalentie van *S.aureus* nasaal dragerschap: 21,6% (Belgium 19,4%)
 - prevalentie van MRSA nasaal dragerschap: van 0% (Zweden) tot 2,1% (Belgium)
- Belangrijk risicofactor voor postoperatieve wondinfecties (POWI):
 - vasculaire HK: incidentie van POWI bij dragers - 7,3% versus 3,8% bij niet- dragers (*Donker et al., 2012*)
 - cardiothoracale HK: odds ratio 4,6 bij de dragers (*San Juan et al., 2007*)
 - orthopedische HK: x 9 hogere vatbaarheid voor POWI bij de dragers (*Kalmeijer et al., 2000*)

S.aureus nasaal dragerschap en dekolonisatie

- MSSA is verantwoordelijk voor \approx 50% van POWI veroorzaakt door *S.aureus*
- Endogene origine van POWI door MSSA vs. exogene door MRSA (*San Juan et al., 2007*)
- Studies in cardiothoracale, cardiovasculaire, orthopedische heekunde toonden
 - daling in het aantal POWI geassocieerd met *S. aureus* (MRSA en MSSA) screening en dekolonisatie (mupirocine en chloorhexidine)

Situatie in UZ Leuven

- Recent werden preoperatieve screening voor MRSA/MSSA en dekolonisatie geïmplementeerd bij de heelkundige patiënten van het borst centrum
 - mupirocine neus zalf x 2/ dag +
 - dagelijks wasbeurt met chloorhexidine zeep
 - duur van dekolonisatie - 5 dagen
- Alle heelkundige patiënten worden preoperatief gescreend op nasaal dragerschap van MRSA → missen van MSSA neusdragers
- Chromogene ChromID S.aureus/ ChromID MRSA biplate werd recent ontwikkeld voor simultane detectie van MRSA en MSSA
 - weinig gekend over de performantie van biplate

ChromID™ MRSA/ChromID™ S.aureus (BioMérieux)



ChromID MRSA section

- rijke voedingsstoffen
 - chromogene substraat van α -glucosidase
 - verschillende AB (o.a. cefoxitine)
- Groei van **groene** kolonies (+ ook groei op SAID)

ChromID S.aureus section (SAID)

- rijke voedingsstoffen (peptonen)
 - 2 chromogene substraten (groei van alle stafylokokken en detectie van de activiteit van specifieke enzymen)
- Groei van **blauw-groene/ groene** kolonies

Vraagstelling

Wat is de performantie van ChromID S.aureus/ChromID MRSA biplate in de identificatie van MSSA en MRSA?

Methode

- *Patiënten*: 1200 patiënten van algemene preoperatieve raadpleging (maart-juni 2013)
- *Stalen*: 1200 nasaal screening E-swabs (Copan, Italy)
- *Media en inoculatie*:
 - Vortexing van tube → directe enting van biplate en
 - Mannitol salt agar (MSA)
- *Incubatie*:
 - 16-24 uur op 37°C in gewone atmosfeer → reïncubatie van alle negatieve tot 42-48 uur
- *Detectie van verdachte kolonies*:
 - SAID gedeelte**: duidelijke groene schijn tot groen (16-24 uur) en blauw- groen tot groen (42-48 uur)
 - MRSA gedeelte**: bleek groen/groen (16-24 uur) en groen/ donker groen (42-48 uur)
 - MSA**: gele kolonies

Methode

Confirmatie van verdachte kolonies:

Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization – Time Of Flight Mass Spectrometer (**MALDI-TOF MS**) (Bruker Daltonics).

Confirmatie van oxacilline gevoeligheid/resistentie:

1. Cefoxitine disk diffusie test op Mueller-Hinton agar met cefoxitine schijf (30µg) → incubatie 24 uur in broedkamer (gewone atmosfeer) → afgelezen volgens CLSI criteria: zone ≤ 21 mm → oxacilline R, zone ≥ 22 mm → oxacilline S.

2. PBP2a latex agglutinatie test (Aleré™, USA) indien de zone rond de cefoxitine schijf ≤ 21 mm

Indien positieve PBP2 α test en resistentie aan oxaciline → MRSA

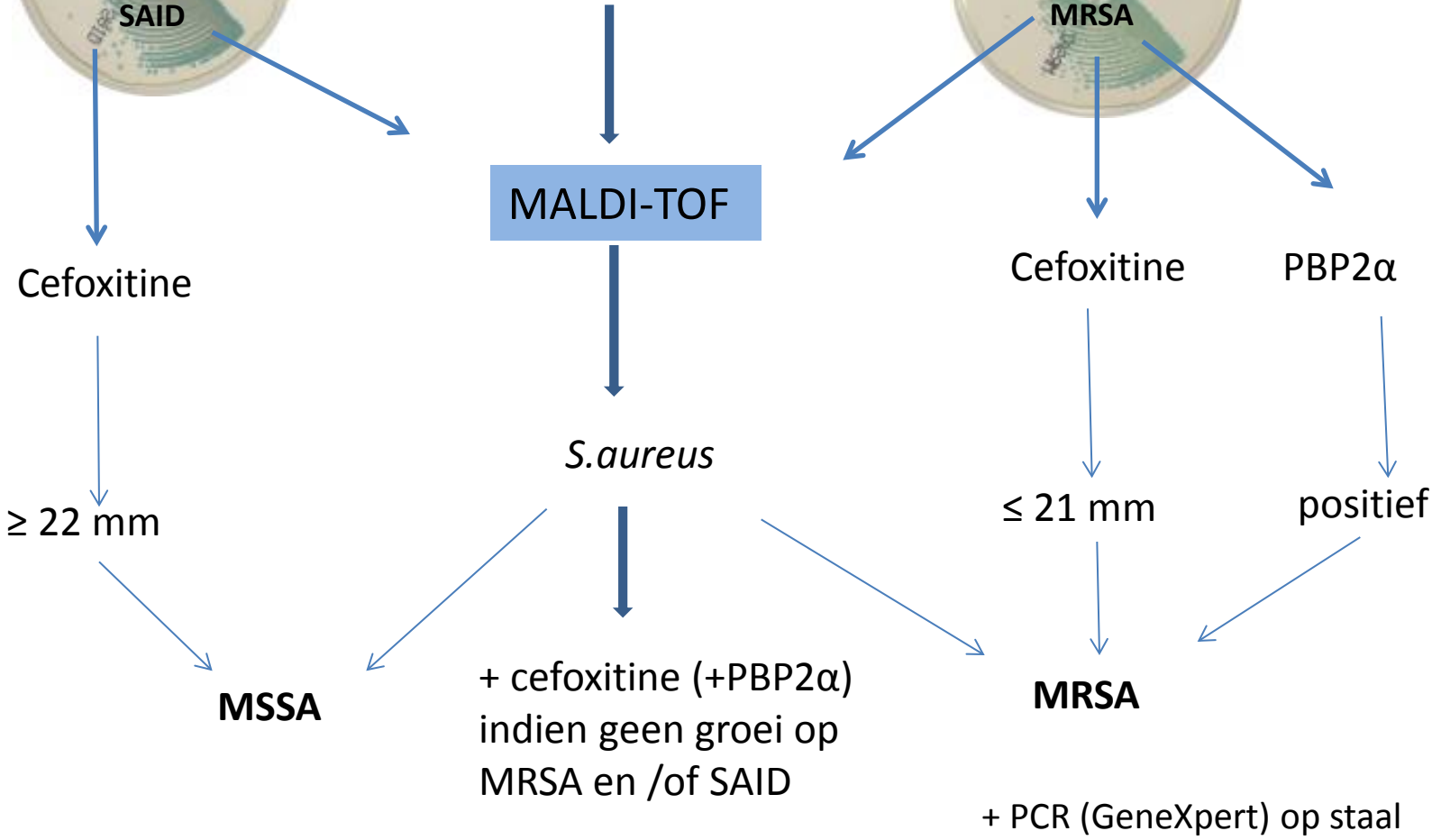
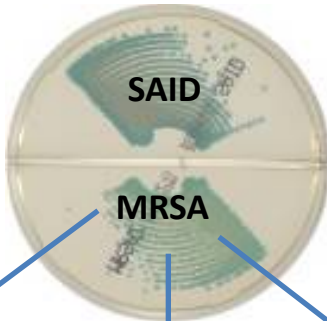
Geconfirmeerde MRSA:

- Detectie van *mecA* gen met real-time PCR (GeneXpert, Cepheid)
- Moleculaire typering in NRCS (Erasmus, Brussel)

Methode



MSA plaat
Gele kolonies



Interpretatieve criteria

- Goud standaard

MSSA: *S.aureus* geïsoleerd van MSA en/of SAID gedeelte na 48 uur, geconfirmeerd door MALDI-TOF en disk diffusie test

MRSA: *S.aureus* geïsoleerd van MSA en/of ChromID MRSA na 48 uur en geconfirmeerd door MALDI-TOF, positieve PBP2 α latex agglutinatie test en disk diffusie test

- Echt negatieve

- geen typische kolonies op SAID/MRSA **EN**

- geen groei op MSA

- Vals positieve

- groei van *groene* kolonies (niet *S.aureus*) op MRSA/SAID **EN**

- geen groei van *S.aureus* op MSA

- Vals negatieve

- geen groei van typische kolonies op MRSA/SAID **EN**

- groei van *S.aureus* op MSA na 48 uur

Resultaten

MSSA	MRSA	Totaal <i>S.aureus</i>	Aantal patiënten
297	14	311	1200
24.8	1.2%	25.9%	

Confirmation of MRSA: susceptibility testing, latex agglutination test and multiplex PCR of MRSA strains.

MRSA strain	Cefoxitin diameter (mm)	Susceptibility	Latex agglutination test	Real-time PCR (GeneXpert)	Multiplex PCR		
					mecA	nuc	16SrRNA
0504-100	14	R ^a	pos ^b	pos	pos	pos	pos
1004-75	14	R	pos	pos	pos	pos	pos
1504-189	15	R	pos	pos	pos	pos	pos
1704-80	14	R	pos	pos	pos	pos	pos
2304-164	14	R	pos	pos	pos	pos	pos
2304-193	11	R	pos	pos	pos	pos	pos
2404-51	16	R	pos	pos	pos	pos	pos
1405-135	14	R	pos	pos	pos	pos	pos
2105-211	12	R	pos	pos	pos	pos	pos
2705-160	14	R	pos	pos	pos	pos	pos
2905-165	14	R	pos	pos	pos	pos	pos
0306-168	13	R	pos	pos	pos	pos	pos
0506-120	14	R	pos	pos	pos	pos	pos
0306-187	12	R	pos	pos	pos	pos	pos

Performantie van biplate na 24 en 48 uur

Medium	Incubation time	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV (%)	NPV (%)
Chrom ID MRSA	24 h	57.1	100	100	99.5
	48 h	92.9	99.7	81.3	99.9
SAID	24 h	66.2	99.0	95.8	89.3
	48 h	94.2	93.6	83.7	97.9

SAID gedeelte

- Weinig gekend over de performantie (zeer weinig studies)
- Onze studie: matige sensitiviteit na 24 uur (66.2%), maar in 60% geen groei op MSA na 24 uur
 - laag inocula in nasaal screenings stalen (vaak 1-3 kolonies)
 - overgroei van commensale flora
 - aanwezigheid van kleine witte kolonies met discrete groene schijn tegen witte achtergrond na 16-24 uur
 - soms kortere dan 20-22 uur incubatie tijd?
- Studie van *Perry et al.*(2003) op wond wissers: sensitiviteit: 96.8%
- Significant hogere sensitiviteit na 48 uur (94.2%)
- Zeer hoge specificiteit na 24 uur (99.0%), ↓ na 48 uur tot 93.6%

Micro-organismes verantwoordelijk voor vals positieve reacties op SAID en Chrom ID MRSA na 48 uur van incubatie.

Organism	No of strains isolated	
	SAID	Chrom ID MRSA
Micrococcus luteus	23	
Coagulase-negative staphylococci	20	
Rothia mucilaginosa	4	
Bacillus sp.	2	2
Aerococcus viridans	1	
Listeria monocytogenes	1	
Enterococcus faecalis		1
Total	51	3

ChromID MRSA gedeelte

- Lage sensitiviteit na 24 uur (57.1%). **Geen verrijking in broth!**
 - hogere sensitiviteit in studies op MRSA stammen (*Malhotra-Kumar et al., Van Vaerenberg et al.*) → hoog inocula, geen inhibitie door commensalen
 - hogere sensitiviteit in studies met verrijking in broth (*aangeraden ook door de firma voor neus en keel screening stalen enkel*)
 - vergelijkbare sensitiviteit in studies op screening stalen zonder verrijking (51%-67.9%)
 - soms kortere dan 20-22 uur incubatietijd?
- Significant betere sensitiviteit na 48 uur (92.9%)
- Uitstekende specificiteit na 24 uur (100%) → rapportage van alle groene kolonies als MRSA na 24 uur incubatie zonder bijkomende testen
- Zeer hoge specificiteit na 48 uur (99.7%)

Conclusie

- 1) Significant hogere sensitiviteit van SAID en ChromID MRSA na 42-48 uur van incubatie → noodzaak van 2 dagen incubatie voor nasale screening stalen (indien geen verrijking in broth)
- 2) Daling van specificiteit van beide media na 48 uur incubatie
- 3) Uitstekende specificiteit van ChromID MRSA na 24 uur incubatie → rapportage van alle groene kolonies als MRSA na 24 uur incubatie zonder bijkomende testen

Real-life studie op nasale screening stalen van preoperatieve patiënten toont aanvaardbare performantie van biplate voor de detectie van MRSA en MSSA in screening stalen na 48 uur incubatie

To do's

Implementatie van ChromID S.aureus/ ChromID MRSA voor de identificatie van MSSA en MRSA in nasaal screening stalen van preoperatieve patiënten van het borstcentrum?

OF

Alternatief : “treat-all strategy” ?