

<http://hdl.handle.net/1765/129602>

**Erasmus MC**

Universitair Medisch Centrum Rotterdam



# Nederlandse samenvatting



## NEDERLANDSE SAMENVATTING

*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) is een bacterie die met name de neus van ongeveer 30% van de gezonde bevolking koloniseert. In deze 30% is de aanwezigheid van de bacterie hardnekkig, dat wil zeggen, over zeer lange tijd. Dit zogeheten *S. aureus* dragerschap is als permanent te beschouwen. De overige 70% van de bevolking draagt af en toe, of zelden tot nooit, deze bacterie bij zich. Naast de neus kunnen ook de keel, oksels, liezen en vagina gekoloniseerd zijn met *S. aureus*. Of iemand deze bacterie bij zich draagt heeft niets te maken met hygiëne. Bij iedereen zijn talloze bacteriën aanwezig op de huid en slijmvliezen. Het permanente dragerschap met *S. aureus* levert doorgaans geen problemen op, vooral niet in mensen met een goede gezondheid. We weten echter wel dat permanente *S. aureus* dragers een hoger risico lopen op het ontwikkelen van (ernstige) infecties met dezelfde *S. aureus* die zij ongemerkt in hun neus bij zich dragen. Voorbeelden van veel voorkomende *S. aureus* infecties zijn: een huidinfectie of een wondontsteking nadat een persoon een operatie heeft ondergaan, een hartklepinfectie bij mensen met hartklepafwijkingen, een bloedbaaninfectie nadat eerst de huid met *S. aureus* geïnfecteerd is geraakt of een infectie (korte of soms langere tijd) na de plaatsing van een kunstheup of -knie.

Onder de microscoop ziet *S. aureus* eruit als een druiventros en op een voedingsbodem in een petrischaal heeft *S. aureus* een gouden kleur. Om deze reden werd de bacterie vroeger 'golden staph' genoemd. Ondanks het feit dat we *S. aureus* al bijna 150 jaar kennen, zijn er ten aanzien van zijn gedrag nog steeds heel veel dingen onbekend. Zo snappen we nog niet goed waarom sommige mensen wél gekoloniseerd raken en sommigen juist niet. Sinds jaren worden meerdere aspecten bestudeerd die van invloed zouden kunnen zijn op het gedrag van *S. aureus*. In het reeds uitgebreid bekende genenpakket van *S. aureus* wordt bijvoorbeeld geprobeerd genen aan te wijzen die ervoor zorgen dat iemand gekoloniseerd raakt. Dit soort experimenten, inoculatiestudies genoemd, worden bijna altijd uitgevoerd in diermodellen (gebruikmakend van bijvoorbeeld muizen of katoenratten). In dit type studie worden levende bacteriën, doorgaans in de neus, aangebracht om overleving en interactie tussen dier en bacterie te testen. Ook kunnen experimenten op de mens worden uitgevoerd. Het Erasmus MC te Rotterdam heeft het enige bestaande, menselijke *S. aureus* inoculatie-model opgezet én in gebruik, maar door ethische beperkingen wordt het steeds lastiger om dit model toe te passen. Een andere mogelijkheid om meer te leren over het gedrag van *S. aureus*, is het bestuderen van de afweerreactie gericht tegen *S. aureus* in het bloed van personen die permanent drager of juist geen drager zijn. Verder kan er ook gekeken worden naar overdracht (transmissie) van *S. aureus* in het ziekenhuis, met name op afdelingen met kwetsbare groepen patiënten, bijvoorbeeld mensen die een hartoperatie hebben ondergaan of pasgeboren baby's. Met transmissie wordt het ongemerkt verplaatsen van *S. aureus* bedoeld, bijvoorbeeld via de handen van een medewerker in de gezondheidszorg. De met *S. aureus* besmette handen raken vervolgens de omgeving of anderen patiënten aan. Het

grootste risico van deze transmissie is dat een 'ontvangende' patiënt een infectie kan krijgen met de overgedragen *S. aureus*. Deze transmissie moet te allen tijde worden voorkomen, maar uit de praktijk blijkt dat dit niet altijd even goed lukt, omdat we soms niet goed in kaart kunnen brengen wie of wat de bron van *S. aureus* is en hoe deze transmissieroute(s) verloopt/verlopen.

In dit proefschrift hebben we meerdere studies verricht die bijdragen aan de kennis over kolonisatie, dragerschap en transmissie van *S. aureus*. In het eerste deel is gekeken of een nieuw (niet-invasief) diermodel in resusapen opgezet kon worden om kolonisatie en eradicatie (verwijdering) van *S. aureus* te bestuderen (**Hoofdstuk 2.1**). De keuze voor een diermodel met resusapen is gemaakt vanwege de vele genetische overeenkomsten met de mens en het feit dat ze natuurlijke dragers zijn van *S. aureus*. Als eerste werden de resusapen getest op aanwezigheid van *S. aureus* en permanente dragers werden over twee groepen verdeeld. Daarna zijn twee (voor mensen gebruikelijke) behandelingen aan de resusapen gegeven om de bacterie tijdelijk uit de neus te eradiceren: een lokale behandeling met alleen een antibacteriële neuszalf (mupirocine) of een behandeling met mupirocine in combinatie met een systemische behandeling (een behandeling om het hele lichaam aan te pakken) door middel van antibiotica-injecties. Het doel van de eradicatie was om de neus van de resusaap extra aantrekkelijk ('leeg') te maken voor de inoculatiebehandeling die een aantal weken later volgde. Tijdens de inoculatiebehandeling werd *S. aureus* stam 8325-4 in de neus van de resusaap aangebracht. We hebben daarna de overleving van *S. aureus* 8325-4 getest, door middel van de afname van neuskweken met een wattenstok, in een periode van een aantal weken na de inoculatie. Uit deze experimenten kwam naar voren dat het mogelijk is om de oorspronkelijke *S. aureus* stammen uit de neuzen van resusapen te eradiceren met de twee behandelingen, en er was geen verschil in uitkomst tussen de behandelingen wanneer alleen gekeken werd naar de neus. De keel en het rectum zijn ook onderzocht op aanwezigheid van *S. aureus* gedurende de studie waarbij de behandeling met de antibiotica injecties iets effectiever leek in het eradiceren van *S. aureus* uit de keel en het rectum. Tevens is het gelukt om de inoculatiebehandeling uit te voeren, maar de variant 8325-4 bleek niet lang te overleven in de neus van de resusaap. We weten nu dat we het resusapen model kunnen gebruiken voor inoculatiestudies en dat inoculatiebehandeling mogelijk zal slagen als er andere varianten van *S. aureus* stammen gebruikt worden. De resusapen zijn medisch goed gecontroleerd en niet ziek geworden gedurende de studieperiode. In **Hoofdstuk 2.2** beschrijven we hoe we een menselijk inoculatie-experiment hebben uitgevoerd met twee varianten van *S. aureus*. De afgelopen jaren hebben ziekenhuizen steeds meer te maken met een, voor veel antibiotica, ongevoelige variant van *S. aureus*, namelijk methicilline-resistente *S. aureus* (MRSA). Het blijkt om een specifiek type MRSA te gaan, MRSA ST398, dat vooral voorkomt onder mensen die in direct contact staan met vee, met name de varkenshouderij. Echter, steeds vaker wordt gerapporteerd dat ook mensen zonder contacten met de varkenshouderijen, MRSA ST398 bij zich kunnen dragen. Het is onduidelijk hoe deze mensen drager

zijn geworden van MRSA ST398. In de literatuur wordt beschreven dat de neus van mensen gemakkelijk 'gecontamineerd' kan raken met MRSA ST398, maar dit kan zelden permanent neusdragerschap worden genoemd. De motivatie om dit menselijke inoculatie-experiment uit te voeren was om te kijken of het toch mogelijk was om de neus van mensen langdurig met *S. aureus* ST398 te koloniseren. Er werd een (klein volume) vloeibare mix van de twee varianten van *S. aureus* aangebracht in de neus van gezonde vrijwilligers, nadat zeven weken daarvoor een eradicatiebehandeling met mupirocine in combinatie met een ontsmettende huidbehandeling (chloorhexidine zeep) was uitgevoerd. De inoculatiemix bevatte een, voor antibiotica gevoelige, uit een kalf afkomstige, methicilline-gevoelige *S. aureus* (MSSA) ST398 variant en een humane *S. aureus* (ST931) variant. De overleving van beide bacteriën werd bestudeerd in een periode van drie weken na de inoculatie. We hebben gevonden dat MSSA ST398 in staat is om te overleven in de neus van gezonde vrijwilligers voor tenminste drie weken. We kunnen stellen dat deze variant tot meer in staat is dan tot dusver werd aangenomen. Daarbij dient te worden opgemerkt dat in de gebruikte studieopzet heel erg over de details werd nagedacht en de vraag is of de situatie vergelijkbaar is met de praktijkomstandigheden waarin mensen ongemerkt in aanraking komen met bacteriën uit de omgeving of via de handen van andere mensen. Voorafgaand aan de inoculatie zijn de neuzen met mupirocine behandeld, wat ook invloed kan hebben gehad op andere bacteriën uit de neus waardoor de mix extra goed heeft kunnen hechten. Een andere reden voor de succesvolle inoculatie kan zijn geweest, dat een grote hoeveelheid bacteriën ( $1 \times 10^7$ ) in één keer is aangebracht in de neus, terwijl in de omgeving normaliter niet zoveel bacteriën circuleren op een kleine oppervlakte.

In **Hoofdstuk 3.1** en **3.2** is *S. aureus* transmissie onderzocht op de intensive care voor pasgeboren baby's (neonatale intensive care unit (NICU)). Pasgeboren baby's (neonaten), in het bijzonder te vroeg geboren, hebben door hun lage geboortegewicht, vaak overige problematiek en een nog niet volledig ontwikkelde afweer, een hoog risico op het ontwikkelen van ziekenhuisinfecties. Neonatale sterfte door bloedbaaninfecties met *S. aureus* komt frequent voor. Er zijn op de NICU uitbraken beschreven met *S. aureus*, van zowel MRSA's als MSSA's, wat suggereert dat de bacterie onbedoeld wordt overgedragen binnen de NICU. Sommige van deze studies tonen aan dat zorgmedewerkers de bron blijken te zijn voor de transmissie. Door middel van een genetische analyse ('whole-genome sequencing') hebben we aangetoond dat de *S. aureus* gekweekt uit 35 neonaten en 4 zorgmedewerkers, in 4 verschillende groepen (clusters) in te delen waren, waarbij in elke groep de *S. aureus* genetisch identiek was. De kweken van al deze personen werden afgenomen in een periode van ruim een jaar. Tien neonaten hebben zelfs een bloedbaaninfectie ontwikkeld met *S. aureus* afkomstig uit een van de vier clusters (**Hoofdstuk 3.1**). We kunnen concluderen uit deze studie dat de zorgmedewerker aantoonbaar een belangrijke rol lijkt te spelen in de transmissie van *S. aureus* op de NICU. De neonaten komen daar immers direct na geboorte terecht, terwijl de zorgmedewerkers al langer op de NICU rondlopen.

In **Hoofdstuk 3.2** zijn in een periode van zeven jaar *S. aureus* stammen, afkomstig van neonaten op de NICU met bloedbaaninfecties, met dezelfde genetische analyse methode bekeken. Er is gekeken of deze stammen aan elkaar verwant waren, wat wederom zou kunnen wijzen op transmissie. Daarnaast is ook gekeken of deze stammen virulenter (schadelijker) waren dan andere stammen uit een controlegroep; een grote referentiedatabase is gebruikt waarin vele *S. aureus* zijn gerapporteerd en opgeslagen. Er is specifiek naar genen gekeken waarvan we weten dat deze extra schade kunnen veroorzaken gedurende een infectie met *S. aureus*. We toonden aan dat er over de jaren meerdere clusters met identieke *S. aureus* circuleerden, wat de suggestie wekt dat er een reservoir of bron binnen de NICU is. Het lijkt dus aannemelijk dat *S. aureus* transmissie, tijdens en door de zorg, bijdraagt aan neonatale bloedbaaninfecties. De route en de bron van transmissie zijn in deze studie niet onderzocht. Daarnaast zijn er twee specifieke *S. aureus* genen gevonden die meer leken voor te komen in de *S. aureus* afkomstig uit het bloed van neonaten, in vergelijking tot de controle groep. Deze twee genen heten 'sea' (staphylococcal enterotoxin A) en 'tsst-1' (toxic shock syndrome toxin-1), en verder onderzoek naar de rol van deze genen is aanbevolen. Interessant is om te vermelden dat van deze genen al is beschreven dat ze vaker voorkomen in *S. aureus* stammen die bloedbaaninfecties veroorzaken.

In toekomstig onderzoek zou het nieuwe resusapen-model gebruikt kunnen worden voor inoculatie- en eradicatiestudies waarbij bijvoorbeeld MRSA ST398 onderzocht kan worden. Daarnaast zou onderzoek van *S. aureus* bronnen op de NICU, en daarmee samenhangend, het voorkomen van neonatale infecties aandacht moeten verkrijgen. Belangrijke toxines van *S. aureus* zijn 'sea' en 'tsst-1', maar hun rol in neonatale bacteriëmie is nog onduidelijk. Nader onderzoek naar de rol van deze toxinen en mogelijke andere toxinen is gewenst om zo, hopelijk, beter zicht te krijgen op waarom sommige neonaten, of misschien in het algemeen sommige mensen, sneller een *S. aureus* (bloedbaan)infectie krijgen dan anderen. Hierbij is het uiteraard de vraag wat de bepalende factor is in de *S. aureus* pathogenese (het ontstaan, ontwikkelen en verloop van een infectie): de bacterie, de mens of juist beide.