

## Whole-genome sequencing shows that patient-to-patient transmission rarely accounts for acquisition of *Staphylococcus aureus* on an intensive care unit.

Clin Infect Dis. 2013 Dec 12. [Epub ahead of print]

James R Price, Tanya Golubchik, Kevin Cole, Daniel J Wilson, Derrick W Crook, Guy E, Thwaites, Rory Bowden, A Sarah Walker, Timothy EA Peto, John Paul, Martin J Llewelyn  
Department of Microbiology and Infection, Royal Sussex County Hospital, Eastern Road, Brighton, UK

### Hintergrund

- *Staphylococcus aureus* ist eine führende Ursache von nosokomialen Infektionen. Die Bemühungen um die *S. aureus*-Infektionen zu reduzieren, fokussieren auf die Verhinderung von Patient zu Patient Übertragung einschließlich MRSA-targeted Maßnahmen (zB. das Screening und die Dekolonisation). Während die MRSA-Bakteriämien Rate gefalle ist, ist die Rate von MSSA-Bakteriämien hoch geblieben.
- Referenzlaboratorien verwenden üblicherweise *spa*-Typisierung oder PFGE. Obwohl verschiedene *spa*-Typen häufig genetisch unterschiedlich sind, kann ein einzelner Basenpaar Wechsel innerhalb des *spa*-Gen zwei verschiedene, aber so genannte „high-related“ *spa*-Typen produzieren.
- Whole-Genom-Sequenzierung (WGS) zeigt die genetische Verwandtschaft der Isolate auf weit höhere Ausführlichkeit als herkömmliche Techniken und zeigt auch einen zeitlichen Zusammenhang zwischen den Isolaten an.

### Studienziel

WGS wurde angewandt, um die Wirksamkeit der konventionellen Methoden zu beurteilen und die Rolle der Patienten als Quelle von *S. aureus* auf der Intensivstation genauer zu bestimmen.

### Methoden

- Single Zentrum, Prospektive Beobachtungs-Studie, über 14 Monate, in einer Intensivstation von einem Lehrspital in UK. Alle konsekutiven Patienten wurden bei Eintritt gescreent, und danach wöchentlich. Screens bestand aus Nasen-und Perineal oder andere Abstrichen.
- *S. aureus* Erwerb (acquisition) wurde definiert durch: (i) negative Eintritt Screen, der von späterem positiven Screen gefolgt wurde; oder (ii) nach einem positiven Eintritt Screen, wurde später ein genetisch anderer *S.aureus* Stamm isoliert.
- Patient-to-Patient Übertragung auf der Intensivstation wurde definiert:
  - Konventionelle: gleichen *spa*-Typ und Suszeptibilität von einem Stamm, die früher ein andere Patient mit überlappenden Aufenthalt hatte;
  - WGS: (unabhängig von Aufenthalt der überlappenden Patienten), mit einem Single Nucleotide Variant (SNV) Unterschied < 40, um die Übertragung auszuschließen.*Spa*: primers 1095F, 1517R  
WGS: Illumina HiSeq2000, SNV – CC30-specific reference.

### Resultate

1181 Patient-Aufenthalte von 1065 Patienten (Alter:64(IQR: 49-76), männlich:688(59%), Aufenthalt:2.6Tage(IQR:1.0-5.6) wurden analysiert.

- ***S.aureus* kolonisation bei Eintritt** auf ICU: innerhalb 24 Stunden auf der ICU wurde (1109/93.9% - 1104 mit nasal und extra-nasal Abstrich) abgenommen. 185 (16.7%) Patienten hatten positive *S.aureus* Abstrich – 59 (5.3%) MRSA (Figure 1.)
- ***S.aureus* Erwerb** auf ICU: Es wurde von 680 Patienten zwei oder mehr Proben abgenommen, um *S. aureus* Kolonisation während ihrem ICU Aufenthalt zu beobachten. 44 Erwerbe (22/44 MRSA) bei 41 Patienten wurden geprüft:
- 35 Erwerbe von 33 Patienten, die ein bei Eintritt negativ Screening gehabt hatten,
- Zusätzlich 8 Patienten erwarben (9 acquisition) neue *spa*-Typen (2 nur mit WGS gefunden)

### Diversität (275 Isolate)

| Spa-Typing   | WGS (Figure 3)   |
|--|--|
| MRSA: 3 typen (t032, t018, t012 von CC22, 30) zuständig für 67.6%<br>MSSA: sehr divers | „ <b>Within-host</b> “ diversität war minimal (48 Patienten mit <i>S.aureus</i> Kolonisation bei Eintritt), zeitlich, und zwischen nasal und extra-nasal<br>„ <b>Between-host</b> “ diversität 154/160 minimaler SNV Unterschied war >40*<br>„ <b>Acquisition</b> “ Isolate: bimodale Verteilung 26/37>100 |

### Übertragung (Figure 2)

| Spa-Typing  | WGS (Figure 4A)   |
|---|---|
| 37 Isolate waren für die Typisierung zur Verfügung von 41 Patienten. 5 Übertragung wurde identifiziert: alle MRSA (t018 pat36, t012 pat 37, t032 ). Alle drei t032 Übertragungen passierten innerhalb von drei Wochen, suggestieren einen möglichen “outbreak” (pat 19, 35, 38) | 2 “highly related” (J/L19; 2SNV),<br>Aber: H/35, I/41 and K/38 waren genetisch unterschiedlich von beiden potentiellen Spender (J) (102-354 SNVs) und voneinander (102-337 SNVs), das wiederlegt die Übertragung.<br>WGS identifizierte noch fünf <i>S. aureus</i> Übertragungen, die durch konventionelle Methoden (Figure 4B) unentdeckt blieben (P- Q –M, Patienten 39-6, 32). |

Insgesamt, wiederlegte WGS drei MRSA Übertragungen, die von Konventioneller Technik angegeben wurden, bestätigt zwei und identifizierte fünf weitere Übertragungen (3 MRSA, 2 MSSA).

### Diskussion

- Unter 680 ICU Eintritt/Aufenthalt mit mindestens 2 Screenings wurden nur 44 Erwerbe von 41 Patienten identifiziert, die anzeigt, dass Erwerbe unter den Patienten der ICU selten sind. Diese Studie zeigt, dass die Verwendung der konventionellen Methoden (spa- Typisierung und epidemiologische Association) eine Übertragung zu identifizieren, die Übertragungstrecken fälschlicherweise bestimmen kann.
- Weiterhin kann es Übertragungstrecken verpassen, insbesondere dann, wenn stationäre Aufenthalte keine Überlappung haben. (In diesen Fällen, könnte die Übertragung indirekt durch medizinisches Personal oder über die Umwelt passieren).
- Eine wichtige Beobachtung ist, dass nur (7/38) 18,9% patient-to-patient Erwerbe auftraten, unabhängig von Methicillin Suszeptibilität.
- Obwohl nur eine Minderheit der *S. aureus*-Stämme MRSA waren, war bei Eintritt auf die Intensivstation MRSA verantwortlich für 50% der Akquisitionen und 5/7 Patient-to-Patient Übertragungen durch WGS.

**Einschränkungen:** Einziges Zentrum, UK: niedrig CA-MRSA, Studie war bezüglich Kolonisation und nicht Erkrankung geplant, Hals oder rektale Abstriche wurde nicht untersucht, nicht alle Isolate wurden bei WGS analysiert.

Diese Studie zeigt, dass WGS die Wirksamkeit der Infektionskontroll-Maßnahmen bezüglich *S.aureus* Übertragung bewerten kann.

\*cut-off (SNV=40): Previous studies have measured *S. aureus* mutation rates at 5-10 SNVs per year, but to avoid underestimating the frequency of patient-to-patient transmission authors used a limit of >40 SNV differences to exclude recent transmission given that SNV differences of up to 40 may be detected within an individual.