

Rapport

Kartlegging av metoder i norske mikrobiologiske laboratorier for resistensbestemmelse av enterokokker mot vankomycin og linezolid, samt Gram-negative stavbakterier mot colistin

Formål og gjennomføring

Formålet med undersøkelsen fra K-res var å kartlegge hvilke metoder som benyttes i norske mikrobiologiske laboratorier for resistensbestemmelse av enterokokker mot vankomycin og linezolid samt Gram-negative stavbakterier mot colistin. K-res vil med dette få et bedre grunnlag for prioriteringer i sitt videre arbeide med kompetansespredning på disse områdene.

Kartleggingen ble gjennomført som en spørreundersøkelse sendt til medlemmer av K-res sitt faglige nettverk 29. mai 2020 og svarene ble mottatt i løpet av juni måned 2020.

Deltakere

Tjue av de 22 inviterte laboratoriene svarte på undersøkelsen.

Resultater

1. Påvisning av vankomycinresistente enterokokker (VRE)

Alle laboratoriene som mottar invasive isolater undersøker disse for følsomhet mot vankomycin. Isolater fra urin og andre prøvematerialer undersøkes også for vankomycinfølsomhet, men noen laboratorier rapporterer at de kun gjør dette for inneliggende sykehuspasienter og vurderer samtidig klinisk relevans. Dette er i tråd med **AFAs anbefalte resistenspaneler** (ute på høring), hvor enterokokker fra sykehusprøver skal testes for vankomycinfølsomhet. AFA presiserer at resistensbestemmelse kun bør utføres når det er overveiende sannsynlig at isolatet er etiologisk årsak til infeksjon som krever antibiotikabehandling. Resultatet bør rapporteres selektivt i henhold til AFAs algoritme for anbefalte resistenspaneler.

Det er betryggende at 16 av 20 laboratorier bruker den anbefalte (AFA/NordicAST) agar metoden (*BHI brytningspunktagar*) som **screening for påvisning av nedsatt følsomhet mot vankomycin**. Ett laboratorium bruker *EUCAST disk diffusjonsmetode* som også er anbefalt. Disk diffusjonsmetoden krever særskilt oppmerksomhet i avlesningen av randsoner (NordicAST, 2019). Ett laboratorium sender enterokokkene til et samarbeidende laboratorium for undersøkelse på vankomycinfølsomhet, mens de

resterende to laboratoriene kun bruker en semiautomatisert metode (Vitek2). Semiautomatiserte metoder anbefales ikke alene fordi de synes å ha en redusert sensitivitet i påvisning av VRE med *vanB* mediert resistens (Hegstad *et al.*, 2014). VanB-type VRE er og har vært den dominante VRE-typen i Norge (Elstrøm *et al.*, 2019; Hegstad *et al.*, 2020). Gradienttester har også vist seg å ha problemer med deteksjon av lavgradig vankomycin resistens (EUCAST, 2019).

Det er også tilfredsstillende at 16 av 20 laboratorier oppgir at de utfører **VRE-genotyping** i eget laboratorium for å bekrefte eller avkrefte mistanke om VRE. De resterende fire laboratorier sender enterokokkene til regional lab eller K-res for molekylær påvisning.

Nitten av 20 laboratorier følger AFAs/NordicASTs anbefalinger om påvisning av *vanA* og *vanB* resistensgener uavhengig av fenotypiske funn på invasive enterokokkisolater. Dette er tilsynelatende tilfredsstillende, men samsvarer ikke helt med resultatene fra **Ringtest (prøve 671) våren 2020**, som inneholdt en **vankomycin variabel *Enterococcus faecium* (VVE)**. Ringtesten viste at «15 av 23 laboratorier påviste eller kommer til å påvise tilstedeværelse av *vanA*. Tolv av laboratoriene oppga at *vanA* var påvist, og tre laboratorier oppga at isolatet er følsomt, men skal sendes K-res eller annet laboratorium for genotypisk påvisning hvor *vanA* ville blitt funnet. Tre av de 12 laboratoriene som påviste *vanA*, oppgir likevel isolatet som følsomt i resultattabellen med resistensbestemmelser». Det anses som feil å rapportere *vanA* positive isolater som følsomme for vankomycin selv om de er fenotypisk følsom.

Vi merker oss at ett laboratorium stiller spørsmål om **anbefalingen om påvisning av *vanA* og *vanB* resistensgener uavhengig av fenotypiske funn i invasive enterokokkisolater** burde revideres sett i lys av at de så langt ikke har funnet VVE-stammer. Det ene laboratoriet som oppgir ikke å følge anbefalingen, har valgt å gjøre *vanA/B*-påvisning kun på invasive enterokokker som er ampicillinresistente og hvor man vurderer å bruke vankomycin i behandling. Dette rådet må vurderes i forhold til den regionale og nasjonale epidemiologiske situasjonen slik man anbefaler i metododokumentet fra NordicAST for påvisning av glykopeptidresistens hos enterokokker. I Danmark rapporteres fortsatt en større andel av invasive *E. faecium*-stammer som *vanA*-VVE.

Forslag til kompetansefremmende tiltak fra laboratoriene: K-res takker for flere gode innspill til kompetansefremmende tiltak i arbeidet med påvisning av VRE. Vi har fokus på VRE i forbindelse med kursvirksomhet og noterer oss at det også er ønsket om å inkludere mer VRE i hospiteringssammenheng, eventuelt webinar.

Når det gjelder spørsmål om relevans av **nye, uvanlige enterokokkarter** (med MALDI-TOF), så er det mindre sannsynlig at de har klinisk relevans i VRE-sammenheng. Majoriteten av VRE er *E. faecium* og deretter *Enterococcus faecalis* (CDC, 2019; EARS-Net,

2018). Disse artene er også de mest kliniske relevante, mens andre kun sporadisk rapporteres å kunne gi klinisk infeksjon. Iboende resistens (VanC) finnes kun hos

Enterococcus casseliflavus og *Enterococcus gallinarum*, mens vi kjenner til 8 typer ervervede *van*-genotyper (*vanA*, *vanB*, *vanD*, *vanE*, *vanG*, *vanL*, *vanM* og *vanN*) (Hegstad *et al.*, 2015).

K-res noterer seg også ønskene om å få anbefalt **hurtigtester for påvisning av VRE/VVE, samt metode for påvisning av VRE bærerskap**. NordicAST har gitt ut et generelt metodedokument for «*Screening for VRE carriage*» (NordicAST, 2017) som K-res har vært med å utarbeide. Her gis en oversikt over laboratoriebaserte screeningsstrategier med fokus på dyrkningsbasert og molekylær deteksjon av VRE. K-res mottar kun isolater for VRE-undersøkelser og ikke prøvematerialer for påvisning av VRE. Vi har derfor ingen spesifikk erfaring med dyrkingsmedier for å påvise VRE bærerskap. Vi viser til Gouliouris *et al.* (2016) og referanser der som understreker viktigheten av å inkubere kromagarscreeningsprøver inntil 48 timer for å kunne ha en akseptabel sensitivitet. Ved utbruddsutredning er det et generelt prinsipp å kunne dokumentere at de screeningsmetoder som benyttes kan påvise den aktuelle utbruddsstammen – konferer utbruddet med *E. coli* ST38 ESBL-CARBA-D (OXA-244). K-res vil vurdere å gjøre en kunnskapsoppsummering på metoder for påvisning av VRE bærerskap i 2021.

Konklusjon: Både spørreundersøkelsen og vårens ringtest (prøve 671) som inneholdt en vankomycin variabel *E. faecium*, viser at det er god regional kompetanse på både fenotypisk og genotypisk påvisning av VRE. Laboratoriene følger i hovedsak nasjonale anbefalinger.

2. Påvisning av linezolidresistente enterokokker (LRE)

Alle laboratoriene undersøker invasive isolater for følsomhet mot linezolid. Hele 19 av 20 laboratorier undersøker i tillegg linezolidfølsomheten hos øvrige kliniske enterokokker. Isolater fra urin (16 av 20 laboratorier) og andre prøvematerialer (15 av 20 laboratorier) undersøkes også tilsvarende. De fleste laboratoriene følger dermed **AFAs anbefalte resistenspaneler** hvor enterokokker fra pasienter i sykehus anbefales undersøkt for linezolidfølsomhet.

De fleste laboratorier (18 av 20) oppgir at de bruker *EUCAST disk diffusjons metoden* for påvisning av linezolidfølsomhet hos enterokokker. I tillegg bruker 12 og 2 laboratorier, henholdsvis, også MIC gradient test og Vitek2. Ett laboratorium bruker kun semiautomatisert metode for å påvise linezolidfølsomhet.

Konklusjon: Undersøkelsen viser at majoriteten av laboratoriene utfører fenotypisk testing av linezolidfølsomhet hos enterokokker i henhold til AFAs anbefalte resistenspaneler. K-res har gjennomført en evaluering av ulike fenotypiske metoders

evne til å påvise linezolidresistens hos enterokokker i samarbeid med EUCAST referanselaboratoriet (EDL) i Växjö. De foreløpige resultater tyder på at EUCAST disk diffusjonsmetoden er robust for å vurdere enterokokkers følsomhet for linezolid. K-res vil komme med en mer detaljert rapport senere.

3. Påvisning av colistinresistente Gram-negative stavbakterier (ColR)

Syv av 20 laboratorier rapporterer at de undersøker colistinfølsomhet hos Gram-negative stavbakterier. Flere laboratorier indikerer at isolater sendes til samarbeidende laboratorium eller K-res for undersøkelse ved behov. **Buljongfortynning er eneste anbefalte metode** for resistensbestemmelse (Matuschek *et al.*, 2017) og foreløpig kun etablert ved fem laboratorier. Hos to laboratorier er buljongfortynning under validering/planlegging. To laboratorier bruker gradientstrips i mangel på buljongfortynning, hvorav ett laboratorium sender isolater til K-res for bekreftelse av funn.

Resistensbestemmelse for colistin utføres i hovedsak ved observert resistens mot andre antibiotika eller hos isolater fra pasienter med kroniske luftveisinfeksjoner hvor det planlegges behandling med colistin. Dette er i henhold til **AFAs anbefalte resistenspaneler** hvor colistin er indikert som ett reservemiddel og hvor testing bør utføres ved resistens mot klinisk relevante første- og andrehåndsmidler.

Ingen laboratorier utfører molekylær påvisning av overførbare colistinresistens (*mcr*-gener).

Konklusjon: Funnene er som forventet i forhold til den kliniske bruken av colistin og utfordringer med resistensbestemmelse. K-res vil ha fokus på å bidra til økt kompetanse i forhold til buljongfortynningsmetoden. Laboratoriene bør følge AFAs anbefalinger i forhold til når det skal utføres resistensbestemmelse for colistin. Basert på dagens nasjonale epidemiologiske situasjon og utbredelse av overførbare colistinresistens, så anbefales det ikke å utføre resistensbestemmelse rutinemessig i forhold til overvåking av *mcr* gener. K-res utfører helgenomsekvensering av colistinresistente isolater for påvisning av *mcr* gener. Vi mener det som dekkende i dagens situasjon, og anser det ikke nødvendig at laboratoriene etablerer særskilte molekylære metoder for påvisning av *mcr*-gener.

K-res takker for gode innspill som vi tar med videre i vår prioritering av arbeid med kompetansespredning.

AFA anbefalte resistenspaneler er ute på høring og vi regner med at laboratoriene benytter muligheten for kommentarer og innspill. Når det gjelder spørsmål om

resistensbestemmelse av koloniseringsflora, så henviser vi til disse anbefalingene hvor det presiseres at resistensbestemmelse kun utføres når det vurderes som klinisk relevant. På spørsmål om undersøkelse av tigesyklinfølsomhet hos enterokokker rutinemessig, henviser vi også til AFAs anbefalte resistenspaneler hvor tigesyklin er del av anbefalt utvidet panel.

Tromsø, 16. november 2020

Arnfinn Sundsfjord
Seksjonsoverlege
arnfinn.sundsfjord@uit.no

Kristin Hegstad
Seniorforsker
kristin.hegstad@uit.no

Ørjan Samuelsen
Seniorforsker
orjan.samuelson@unn.no

Referanser

1. CDC. Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2019. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, CDC; 2019. <http://dx.doi.org/10.15620/cdc:82532>.
2. Elstrøm P, Astrup E, Hegstad K, Samuelsen Ø, Enger H, Kacelnik O. The fight to keep resistance at bay, epidemiology of carbapenemase producing organisms (CPOs), vancomycin resistant enterococci (VRE) and methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Norway, 2006 – 2017. PLOS One 14:e0211741. doi: 10.1371/journal.pone.0211741.
3. European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). 2018. Surveillance Atlas of Infectious diseases. <https://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx?Dataset=27&HealthTopic=4>.
4. European committee on antimicrobial susceptibility testing (EUCAST). 2019. Vancomycin susceptibility testing in *Enterococcus faecalis* and *E. faecium* using MIC gradient tests – a modified warning. https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Warnings/Warnings_docs/Warning_-_glycopeptide_gradient_tests_in_Enterococci.pdf
5. Gouliouris T, Blane B, Brodrick HJ, Raven KE, Ambridge KE, Kidney AD, Hadjirin NF, Török ME, Limmathurotsakul D, Peacock SJ. 2016. Comparison of two chromogenic media for the detection of vancomycin-resistant enterococcal carriage by nursing home residents. Diagn Microbiol Dis 85: 409-12.
6. Hegstad K, Giske CG, Haldorsen B, Matuschek E, Schønning K, Leegaard TM, Kahlmeter G, Sundsfjord A on behalf of the NordicAST VRE detection study group. 2014. Performance of the EUCAST disk diffusion method, CLSI agar screen and VITEK 2 automated antimicrobial susceptibility testing system in detection of clinical isolates of enterococci with low and medium level VanB-type vancomycin resistance: a multicentre study. J Clin Microb 52:1582-9.
7. Hegstad K, Samuelsen Ø, Hegstad J, Sundsfjord A. 2015. Molecular methods for detection of antibacterial resistance genes: rationale and applications, p. 408-49. In D. Amsterdam (ed.) Antibiotics in Laboratory Medicine, 6th Edition. Wolters Kluwer. ISBN-13: 978-1-4511-7675-9.
8. Hegstad K, Samuelsen Ø, Janice J, Elstrøm P, Kacelnik O, Sundsfjord A. 2020. Forekomst og molekylære genetiske analyser av bakterier med spesielle resistensmønstre i Norge 2019 – rapport fra nasjonalt referanselaboratorium. <https://unn.no/fag-og-forskning/k-res#faglige-rapporter-og-vitenskapelige-publikasjoner>



9. Matuschek E, Åhman J, Webster C, Kahlmeter G. 2017. Antimicrobial susceptibility testing of colistin – evaluation of seven commercial MIC products against standard broth microdilution for *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Acinetobacter* spp. Clin Microbiol Infect 24:865-870.
10. NordicAST. 2017. Screening for Vancomycin-resistant Enterococci (VRE) carriage. http://www.nordicast.org/d/4898?store_referer=true.
11. NordicAST. 2019. Detection of glycopeptide-resistance in enterococcal isolates. http://www.nordicast.org/d/5448?store_referer=true.