

Forekomst og molekylære genetiske analyser av bakterier med spesielle resistensmønstre i Norge 2021 – rapport fra nasjonalt referanselaboratorium

- Vankomycinresistente enterokokker
 - Linezolidresistente enterokokker
- Karbapenemaseproduserende Gram-negative bakterier
- Overførbar kolistinresistens hos Gram-negative bakterier

Kristin Hegstad¹, Ørjan Samuelsen¹, Jessin Janice¹, Torunn Pedersen¹, Petter Elstrøm², Oliver Kacelnik² og Arnfinn Sundsfjord¹

¹Nasjonal kompetansetjeneste for påvisning av antibiotikaresistens (K-res), Universitetssykehuset Nord-Norge

²Meldingssystem for smittsomme sykdommer (MSIS), Folkehelseinstituttet



INNHOLDFORTEGNELSE

SAMMENDRAG	2
SUMMARY	3
BAKGRUNN	4
VANKOMYCINRESISTENTE ENTEROKOKKER.....	4
LINEZOLIDRESISTENTE ENTEROKOKKER.....	7
KARBAPENEMASEPRODUSERENDE GRAM-NEGATIVE BAKTERIER	11
Enterobacterales	11
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	17
<i>Acinetobacter</i>	18
OVERFØRBAR KOLISTINRESISTENS HOS GRAM-NEGATIVE BAKTERIER.....	20
REFERANSER	21

Sammendrag

Det ble rapportert 34 tilfeller med **vankomycinresistente enterokokker** (VRE) i Norge i 2021. Dette representerer en fortsatt og betydelig nedgang (55%) fra 2020. K-res har kun helgenomdata for fem av disse som alle er *E. faecium*. Fire tilhører en globalt utbredt sykehusadaptert klon (ST80). De norske ST80-isolatene er ikke nært beslektet med hverandre. For å få en nødvendig oversikt over den molekylære epidemiologiske VRE-situasjonen i Norge har K-res eksplisitt bedt om at alle VRE-isolater sendes referanselaboratoriet fra 2022.

Antallet nye tilfeller med **linezolidresistente enterokokker** (LRE) i Norge i 2021 er fortsatt lavt ($n=16$). Majoriteten av LRE isolatene var fra infeksjoner ($n=14$). *Enterococcus faecalis* med overførbar resistens (*optrA*) var den dominerende LRE-typen ($n=9$). Slektkapsanalyser bekrefter at det i 2021 ble registrert et sykehusutbrudd med *E. faecium* ($n=5$) med kromosomal mutasjonsbasert resistens.

Forekomsten av **karbapenemaseproduserende Gram-negative** var på omtrent samme nivå i 2021 som i 2020. Antallet unike tilfeller av **karbapenemaseproduserende Enterobacterales** var 58 i 2020 vs. 60 i 2021. Basert på data fra rekvisjon var 30% av tilfellene assosiert med import, mens for 12% av tilfellene var det angitt at det ikke forelå importmistanke. Disse dataene må tolkes med varsomhet da det for 58% av tilfellene var angitt at importstatus var ukjent. For **karbapenemaseproduserende Acinetobacter** (10 tilfeller i 2020 vs. 8 tilfeller i 2021) og **karbapenemaseproduserende Pseudomonas aeruginosa** (4 tilfeller i 2020 vs. 1 tilfelle i 2021) var det en fortsatt nedadgående trend. Alle tilfellene av karbapenemaseproduserende *P. aeruginosa/Acinetobacter* var assosiert med import. Genetiske slektkapsanalyser bekreftet kjent utbrudd av OXA-181-producerende *K. pneumoniae* ST22 som involverte sju pasienter. Videre ble det påvist nært genetisk slektskap av kjente karbapenemaseproduserende *K. pneumoniae* høy-risiko kloner som ST147 ($n=3$) og ST307 ($n=2$). De tre ST147 isolatene hadde enten NDM-1 ($n=2$) eller NDM-1+KPC-2 ($n=1$), mens ST307 isolatene enten hadde OXA-48 eller OXA-181. For begge klyngene foreligger det ingen klar epidemiologisk kobling som kan forklare evt. nosokomial spredning. ST147 isolatene var ikke assosiert med import, mens begge ST307 isolatene var assosiert med import fra Spania/Gran Canaria. Utover dette gir ikke slektkapsanalysene holdepunkter for innenlands spredning. Forekomsten er som tidligere år i stor grad assosiert med en relativt stor diversitet av kloner og karbapenemasegener. Noen kjente globalt utbredte kloner assoserte med spesifikke karbapenemasegener dominerer.

Overførbar kolistinresistens ble ikke påvist i 2021.

Summary

In 2020, the number of identified **vancomycin resistant enterococci** (VRE) in Norway was 34 isolates. This represents yet another significant decrease (55%) from the previous year. In this report, we present genomic data for only 5 *E. faecium* isolates. Four of these belong to a globally dispersed hospital adapted clone (ST80) but the Norwegian isolates are not closely related to each other. We have asked the laboratories to send all VRE-isolates to K-res from 2022 to gain a better molecular overview of VRE in Norway.

The prevalence of **linezolid resistant enterococci** (LRE) in Norway is still low in 2021 (n=16). The majority of the LRE isolates are from infections (n=14). *Enterococcus faecalis* with transferable resistance (*optrA*) was the dominant LRE-variant (n=9). Phylogenetic analyses confirmed an outbreak of *E. faecium* (n=5) resistant to linezolid due to a mutation (G2576T) in the 23S rRNA gene.

The number of **carbapenemase-producing Gram-negative bacteria** was approximately at the same level in 2021 as in 2020. The number of unique **carbapenemase-producing Enterobacterales** was 60 in 2021 vs. 58 in 2020. Based on data from the submitted requisition, 30% of the cases were associated with import while for 12% of the cases the submitting laboratory indicated no import. However, these data should be interpreted with caution since for 58% of the cases import status was assigned as unknown. One carbapenemase-producing *P. aeruginosa* case was identified in 2021 vs. four in 2020 and eight cases of carbapenemase-producing *Acinetobacter* in 2021 vs. ten in 2020. All cases of carbapenemase-producing *P. aeruginosa* and *Acinetobacter* were associated with import and phylogenetic analysis of the *Acinetobacter* isolates showed that they were unrelated. Phylogenetic analysis confirmed an outbreak of OXA-181-producing *K. pneumoniae* ST22 involving seven patients at one hospital. Additionally, close genetic relationship between isolates were found in two other cases. Three cases of *K. pneumoniae* ST147 harbouring either NDM-1 (n=2) or NDM-1+KPC-2 (n=1) and two *K. pneumoniae* ST307 harbouring either OXA-48 or OXA-181. For both clusters no epidemiological connection was found. The ST147 isolates were not associated with import while both ST307 isolates were associated with import (Spain/Gran Canaria). Except these clusters, the carbapenemase-producing Gram-negatives in Norway are in general associated with a large diversity of clones and carbapenemase genes, including globally disseminated clones associated with specific carbapenemase genes.

Plasmid-mediated colistin resistance (*mcr*-genes) was not identified in 2021.

Bakgrunn

Smittebærertilstand eller infeksjoner med VRE, LRE, karbapenemaseproduserende Gram-negative bakterier (*Enterobacterales*, *Pseudomonas* og *Acinetobacter*) og Gram-negative bakterier med overførbar kolistinresistens er meldingspliktige sykdommer i MSIS (Meldingssystem for smittsomme sykdommer). Universitetssykehuset i Nord-Norge (UNN) ved Nasjonal kompetansetjeneste for påvisning av antibiotikaresistens (K-res) har den nasjonale referansefunksjonen på dette området¹. K-res mottar slike bakterieisolater for bekreftende undersøkelser inkludert genetiske slektskapsanalyser for å kunne avdekke smitteutbrudd. Vi rapporterer her forekomst og karakteristika av VRE, LRE, Gram-negative bakterier med karbapenemaseproduksjon eller/og overførbar kolistinresistens i Norge for 2021.

Vankomycinresistente enterokokker

Enterokokker er den sjette vanligste forekommende bakterielle årsaken til sykehusinfeksjoner i Europa (1) og det femte mest vanlige bakteriegenus av blodkulturisolater i Norge (2). De har iboende resistens mot mange antimikrobielle midler og er raske til å erverve resistens mot nye klinisk viktige midler inkludert vankomycin (3).

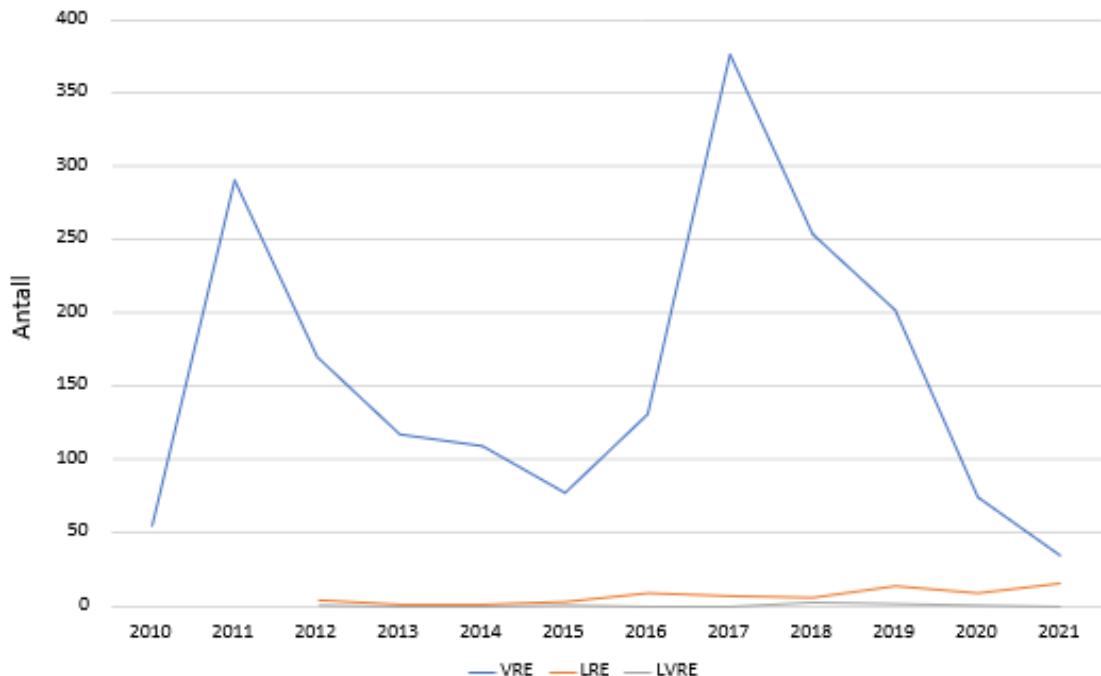
Vankomycinresistens hos enterokokker skyldes genklustre som bidrar til å endre peptidsidekjedeendene som er viktige for kryssbinding i celleveggen, slik at vankomycin ikke kan binde seg til disse (4). Per i dag kjenner vi til 10 ulike genklustre (*vanA*, *vanB*, *vanC*, *vanD*, *vanE*, *vanG*, *vanL*, *vanM*, *vanN* og *vanP*) som kan gi vankomycinresistens hos enterokokker, hvorav *vanC* er iboende hos *Enterococcus casseliflavus* og *Enterococcus gallinarum*. De andre genklustrene er ervervede, påvises oftest i *Enterococcus faecalis* og *Enterococcus faecium*, og er i varierende grad assosiert med suksessfulle mobile genetiske elementer slik som plasmider og integrative konjugative elementer. Det mest vanlige ervervede genklusteret på verdensbasis er *vanA* og deretter *vanB* (5,6).

VRE er meldepliktige til MSIS. Ved K-res bekrefter vi resistensfenotypen og avdekker eventuell diskrepans mellom feno- og genotype med referansemetoden (mikrobuljongfortynning) og genetisk karakterisering med PCR og helgenomsekvensering (HGS). HGS gjøres for å avklare resistensmekanismer og overvåke slektskap mellom isolatene med tanke på regional/nasjonal smittespredning.

I Europa har man sett en bekymringsverdig økning i vankomycinresistente *E. faecium* fra 2016-2020 (7). I Norge har insidensen av VRE variert noe de siste 10 årene. I 2021 ble det registrert 34 VRE i Norge. Ingen av disse var linezolidresistente (LVRE) (Figur 1). I motsetning til flere andre land i Europa

(7) så var det en betydelig nedgang i antall VRE fra 2019 til 2020 (63% mindre) i Norge, og denne trenden har fortsatt med ytterligere nedgang (55% mindre) fra 2020 til 2021. K-res har mottatt isolater og/eller HGS data på kun 5 (15%) av disse. Dette er derfor ikke en fullverdig oversikt over VRE-situasjonen i Norge. Vi har derfor bedt om at laboratoriene sender K-res alle VRE fra 2022. Se Tabell 1 for oversikt over fordeling av VRE på helseregioner og antall K-res har HGS data på.

¹ UNN ved K-res er referanselaboratorium for følgende mikrober med spesielle resistensmønstre: vankomycinresistente enterokokker, linezolidresistente enterokokker, karbapenemaseproduserende Gram-negative bakterier og overførbar kolistinresistens hos Gram-negative bakterier



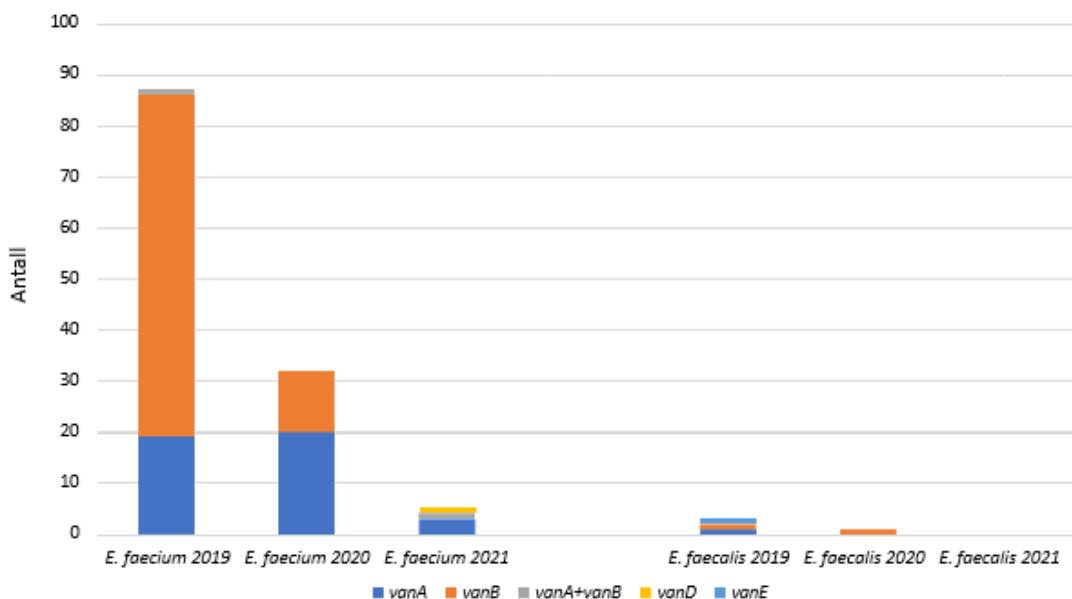
Figur 1. Antall vankomycinresistente (VRE), linezolidresistente (LRE) og både vankomycin- og linezolidresistente (LVRE) enterokokker i Norge 2010-2021. Kombinerte data fra MSIS.no og K-res.

Tabell 1. Antall VRE isolater (n=34) i Norge for 2021 samt HGS data analysert på K-res fordelt på helseregioner

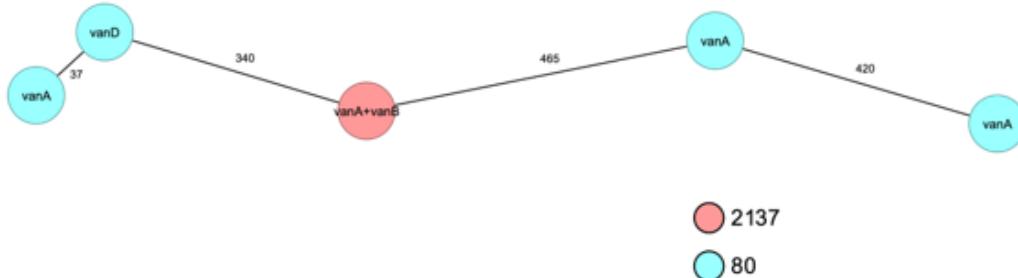
Helse region	Antall VRE	Antall VRE med HGS
Helse Sør-Øst	21	4
Helse Vest	11	1
Helse Midt	2	0
Helse Nord	0	0

Av de 5 VRE vi fikk tilsendt i 2021 var 3 *vanA* og en *vanD* *E. faecium*, mens et *E. faecium* isolat inneholdt både *vanA* og *vanB* (Figur 2). VRE i Norge har tidligere har vært dominert av *vanB E. faecium*

(8). På verdensbasis er det i mye større grad funnet vankomycinresistente *E. faecium* enn *E. faecalis* (9,10), og *vanA* heller enn *vanB* (5). Fire av de tilsendte VRE tilhørte sekvenstype (ST) 80 som er en kjent global sykehusadaptert klon. Et siste isolat som var et importisolat, tilhørte en ny sekvenstype (ST2137). Alle de tilsendte VRE var sporadiske isolater (Figur 3).



Figur 2. Fordeling av species og genotype i norske VRE isolater som K-res har helgenomsekvensdata på for 2019, 2020 og 2021. Inkluderer også linezolidresistente VRE.



Figur 3. Minimum spanning nettverk bygd fra kjernegenom allel profilen på 5 norske VRE *E. faecium* isolater fra 2021 med bruk av SeqSphere software og Aus0004 referansestamme. Isolatene er fargekodet etter sekvenstype (ST). Ingen av isolatene er nært genetisk beslektede definert som ≤ 20 allelforskjeller).

Konklusjon: Det ble rapportert 34 tilfeller med vankomycinresistente enterokokker (VRE) i Norge i 2021. Dette representerer en fortsatt og betydelig nedgang (55%) fra 2020. K-res har kun helgenomdata for fem av disse som alle er *E. faecium*. Fire tilhører en globalt utbredt sykehusadaptert klon (ST80). De norske ST80-isolatene er ikke nært beslektet med hverandre. For å få en nødvendig oversikt over den molekylære epidemiologiske VRE-situasjonen i Norge har K-res eksplisitt bedt om at alle VRE-isolater sendes referanselaboratoriet fra 2022.

Linezolidresistente enterokokker

Linezolid anses for å være siste skanse i behandlingen av infeksjoner med multiresistente enterokokker, inkludert vankomycinresistente enterokokker. Forekomsten av linezolidresistens blant kliniske enterokokker (LRE) er fortsatt lav (<1%) på verdensbasis (11), men økende i mange land (12,13).

Linezolid binder seg til ribosomet og hemmer bakteriens proteinsyntese. Både mutasjonsbaserte endringer i ribosomalt RNA og ribosomal proteiner samt genprodukter som kjemisk modifiserer (metylerer) ribosomet (*cfr*), kan endre ribosomet og hindre at linezolid binder seg. En annen type resistensmekanisme skyldes gener (*optrA* og *poxtA*) som produserer proteiner som beskytter ribosomet mot binding av linezolid. Både *cfr*, *optrA* og *poxtA* kan være lokalisert på mobile genetiske elementer (12,14,15). *Cfr* genet som gir resistens mot linezolid, fenikoler, linkosamider, pleuromutiliner og streptogramin A i f.eks. *E. coli* og stafylokokker synes ikke å mediere linezolidresistens i enterokokker selv om det er uttrykt. Dette skyldes trolig spesifikke ribosomstrukturer hos enterokokker (12,16). Mutasjonsbasert resistens opptrer oftest etter behandling med oxazolidinoner (17). Den mest vanlige kromosomale mutasjonen som forårsaker linezolidresistens er G2576U mutasjon i 23S rRNA V domenet. De fleste arter har mer enn en kopi av 23S rRNA genet i genomet og resistensnivået korrelerer med antall kopier som har mutasjonen (18,19).

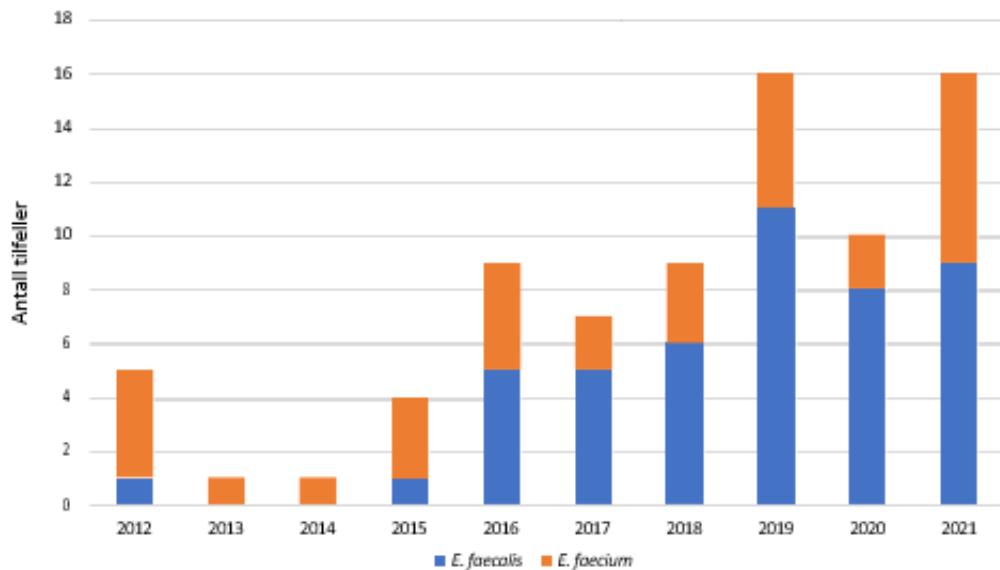
LRE er meldepliktige til MSIS. Det nasjonale referanselaboratoriet for LRE (K-res) bekrefter resistensfenotypen med referansemetoden (mikrobuljongfortynning) og utfører genetisk karakterisering med PCR og helgenomsekvensering for å finne resistensmekanismer og overvåke slektskap mellom isolatene. AFA tilråder rutinemessig følsomhetstesting for linezolid av kliniske enterokokkisolater i Norge i sine anbefalte resistenspaneler. Det er usikkert i hvor stor grad dette gjennomføres. I NORM 2020-rapporten ble alle invasive enterokokkisolater (n=1203) kategorisert som S (2). Vi har derfor ikke holdepunkter for at LRE er et større problem i Norge, men i lys av den globale økningen bør anbefalingene fra AFA følges.

I 2021 ble det påvist 16 tilfeller av LRE i Norge. Dette er 6 flere tilfeller sammenlignet med 2020 (Figur 4). Speciesdistribusjonen har de siste årene dreid fra *E. faecium* mot flere *E. faecalis*. Økning i *E. faecalis* LRE i Norge f.o.m. 2016 skyldes i hovedsak *E. faecalis* med *optrA* (Figur 5; n=41).

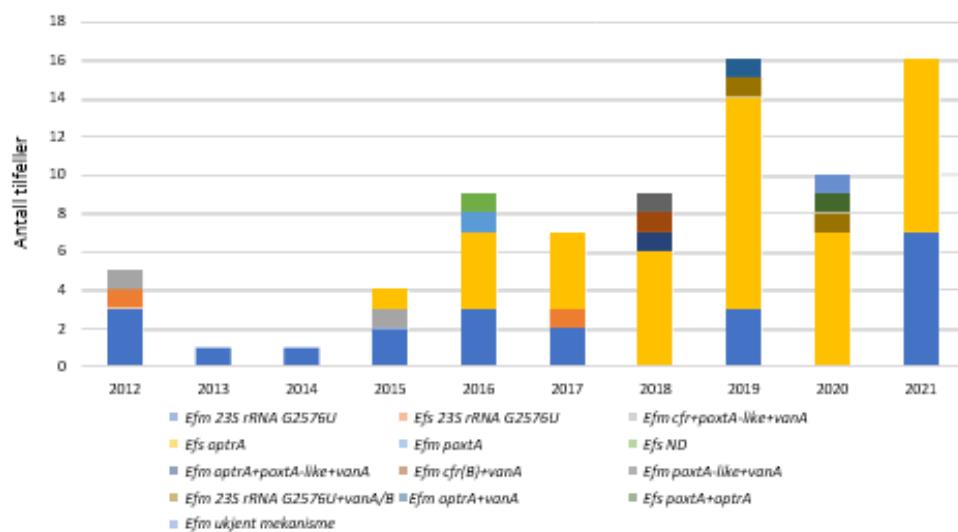
Mutasjonsbasert kromosomal resistens, hovedsakelig G2576U mutasjonen i 23S rRNA, har tradisjonelt vært den dominerende resistensmekanismen mot linezolid. Den er kjent for å kunne oppstå ved langvarig eksponering for linezolid (20). I 2021 ble det påvist sju linezolidresistente *E. faecium* hvorav alle hadde mutasjonsbasert resistensmekanisme. Av *E. faecalis* isolatene (n=9) hadde alle *optrA* (Figur 5). Fjorten av LRE-isolatene i 2021 var fra infeksjoner, hvorav åtte hadde *optrA*. Det resterende isolatet var et bærerisolat. Ingen av isolatene var assosiert med kjent import, men det foreligger manglende opplysninger om import for tretten isolater. Av *E. faecium*-isolatene var seks ST80 og et ST17, begge kjente sykehussassoserte sekvenstyper. *E. faecalis* isolatene (n=9) tilhørte 8 ulike ST hvorav ST179 ble funnet i to isolater (Tabell 2).

Tabell 2. Species, resistensmekanisme og sekvenstype blandt LRE isolater i Norge 2021

Species	Resistensmekanisme	ST
<i>E. faecalis</i> (n=9)	<i>optrA</i> (n=9)	ST179 (n=2); ST16 (n=1); ST21 (n=1); ST506 (n=1); ST1022 (n=1); ST1115 (n=1); ST1116 (n=1); ST1238 (n=1)
<i>E. faecium</i> (n=7)	23S rRNA G2576U mutasjon (n=7)	ST80 (n=6); 17 (n=1)

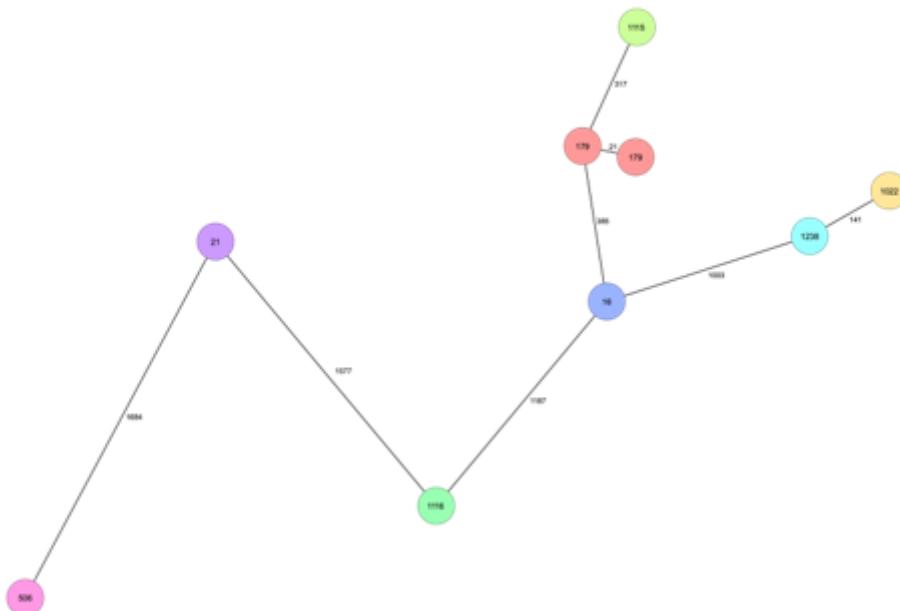


Figur 4. Antall linezolidresistente *E. faecium* og *E. faecalis* i Norge 2012-2021. Oversikten inkluderer også LRE som er vankomycinresistente.

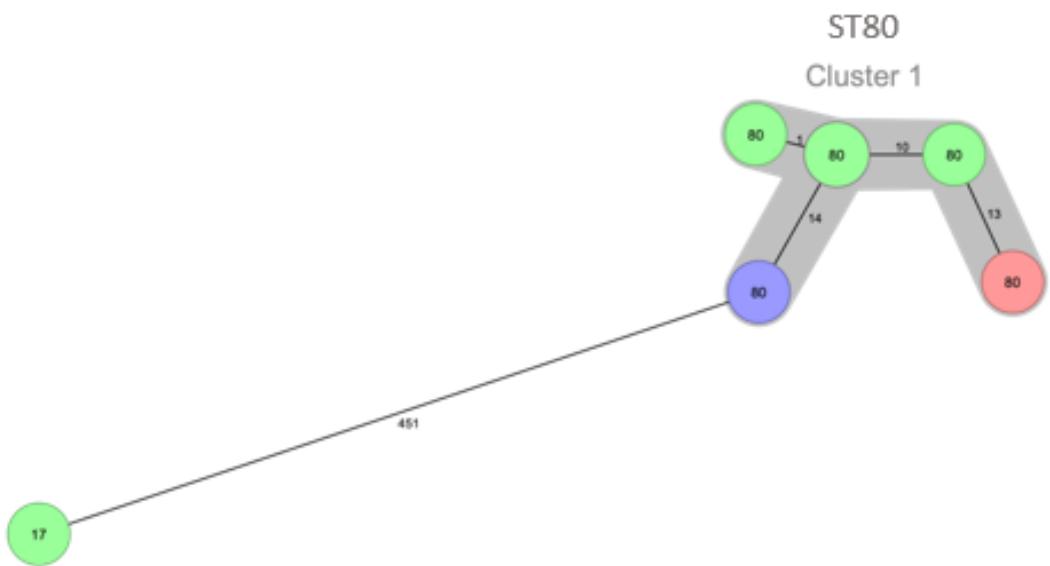


Figur 5. Antall LRE i forhold til resistensmekanismer per år. ND = ikke bestemt genotype fordi isolatet ikke ble sendt K-res eller arkivert ved primærlaboratoriet. *Efm* = *E. faecium*. *Efs* = *E. faecalis*.

Helgenomanalyser har vist at ingen av *E. faecalis* isolatene tilhørte samme klynge (**Figur 6**). Slektkapsanalysene viste derimot en klynge av ST80 *E. faecium* (n=6) med G2576U mutasjon i 23S rRNA V domenet (**Figur 7**). Epidemiologiske data samt alternativ fylogenetisk analyse støttet opp om at 5 av disse isolatene tilhørte et utbrudd knyttet til 2 sykehus ved OUS. Det har inntil 2021 ikke vært påvist innenlands smittespredning med unntak av en klynge på tre isolater med linezolidresistente *Enterococcus faecium* i 2012-13 (21) så dette er det første registrerte sykehusutbruddet med LRE i Norge.



Figur 6. Minimum spanning nettverk bygd fra kjernegenom allel profilen på 9 norske LRE *E. faecalis* isolater fra 2021 med bruk av SeqSphere software og OG1RF referansestamme.
Isolatene er fargekodet etter ST. Ingen av isolatene var nært genetisk beslektede isolater (≤ 7 SNP forskjeller).



Figur 7. Minimum spanning nettverk bygd fra kjernegenom allel profilen på 7 norske LRE *E. faecium* isolater fra 2021 med bruk av SeqSphere software og Aus0004 referansestamme.
Isolatene er fargekodet etter sykehus. De seks ST80 isolatene danner en klynge (≤ 20 SNP forskjeller). Epidemiologiske data samt alternativ fylogenetisk analyse støttet opp om at 5 av disse isolatene tilhørte et utbrudd knyttet til 2 sykehus ved OUS.

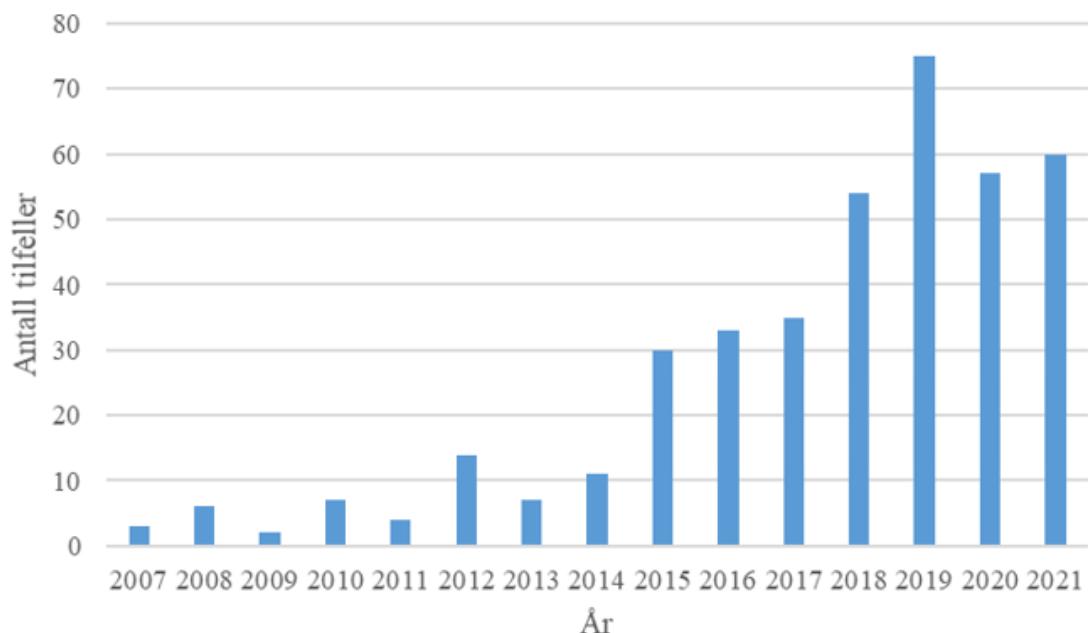
Konklusjon: Antallet nye tilfeller med LRE er fortsatt lavt. Det var seks flere meldte tilfeller av LRE i 2021 ($n=16$) sammenlignet med 2020. Majoriteten av LRE isolatene fra 2021 var fra infeksjoner ($n=14$). Siden 2016 har det vært en dreining fra funn av *E. faecium* med mutasjonsbasert linezolidresistens til funn av LRE med overførbare resistensmekanismer dominert av *E. faecalis* med *optrA*. Slektkapsanalyser og epidemiologiske data viser at dreningen mot funn av LRE med overførbare resistensmekanismer ($n=9$) ikke skyldes innenlands smittespredning. Derimot ble det i 2021 registrert et sykehusutbrudd med *E. faecium* ($n=5$) med mutasjonsbasert resistensmekanisme.

Karbapenemaseproduserende Gram-negative bakterier

Karbapenemresistens hos Gram-negative er en av de største bidragsyterne til sykdomsbyrden forårsaket av antibiotikaresistens og forekomsten er økende (21,22). Den epidemiologisk viktigste resistensmekanismen for karbapenemresistens er karbapenemaser – β -laktamaser med aktivitet mot karbapenemer. Genene som koder for karbapenemasene er koblet til mobile genetiske elementer inkludert plasmider som fører til effektiv spredning. Isolater med plasmid-medierte karbapenemasegener er ofte multiresistente og forårsaker infeksjoner med svært begrensede behandlingsmuligheter.

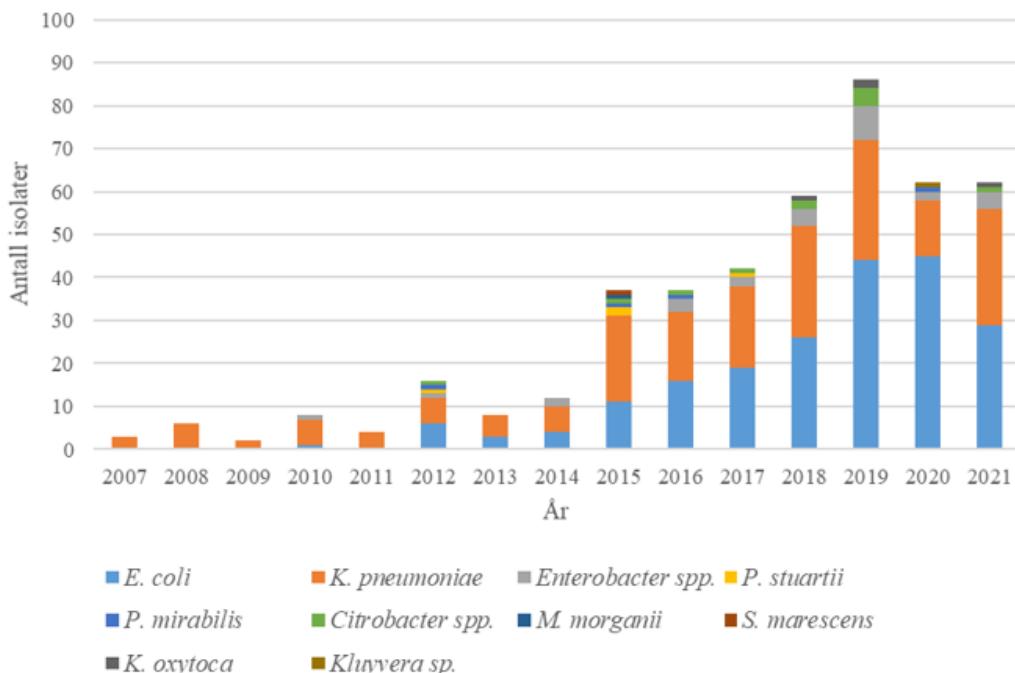
Enterobacteriales

I 2021 ble det identifisert 60 pasienter med påvist karbapenemaseproduserende *Enterobacteriales* (CPE) (Figur 8). Dette er en økning fra 58 tilfeller i 2020. Mistanke om import var angitt for 34% av tilfellene, mens det for 20% av tilfellene var angitt at det ikke var mistanke om importsmitte. For 46% av tilfellene var importsmitte uavklart.



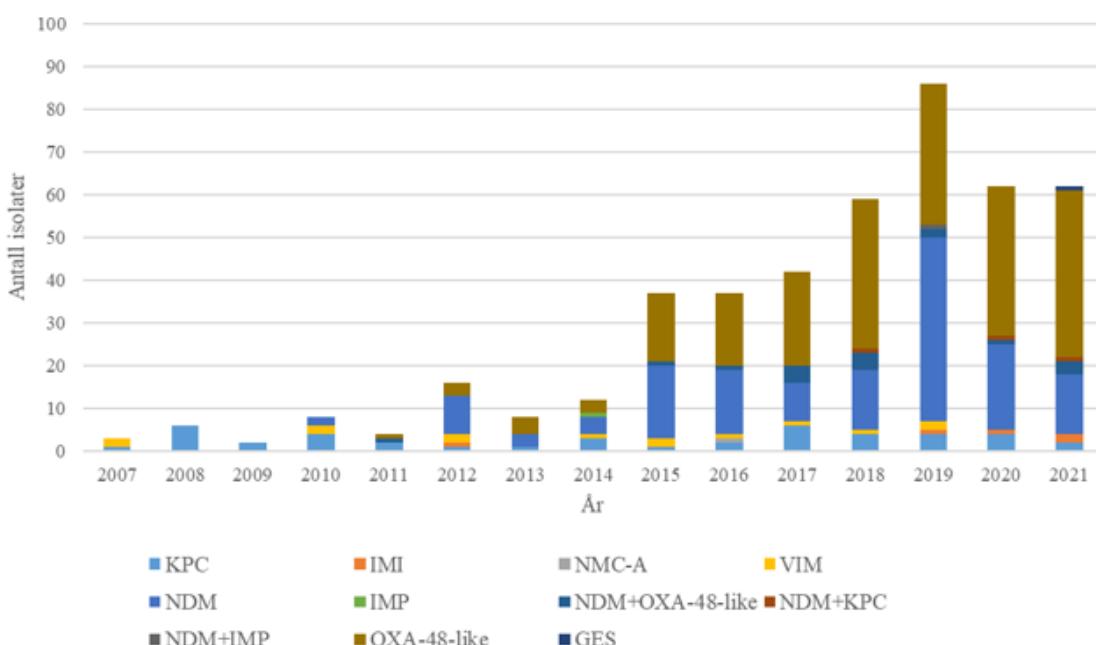
Figur 8. Antall tilfeller av CPE i Norge 2007-2020.

Totalt ble det påvist 62 CPE-isolater, hvorav 46% ble meldt som klinisk infeksjon. Hos to pasienter ble det påvist mer enn ett CPE-isolat av forskjellige species/karbapenemasegener eller samme species med forskjellige sekvenstyper (ST). Antall *Escherichia coli* ($n=29$) i 2021 er en nedgang fra 45 isolater i 2020. Antall *Klebsiella pneumoniae* isolater økte fra 13 i 2020 til 27 i 2021 (Figur 9). Fire karbapenemaseproduserende *Enterobacter* sp. og henholdsvis ett *Citrobacter* sp. og ett *Klebsiella oxytoca* isolat ble identifisert.



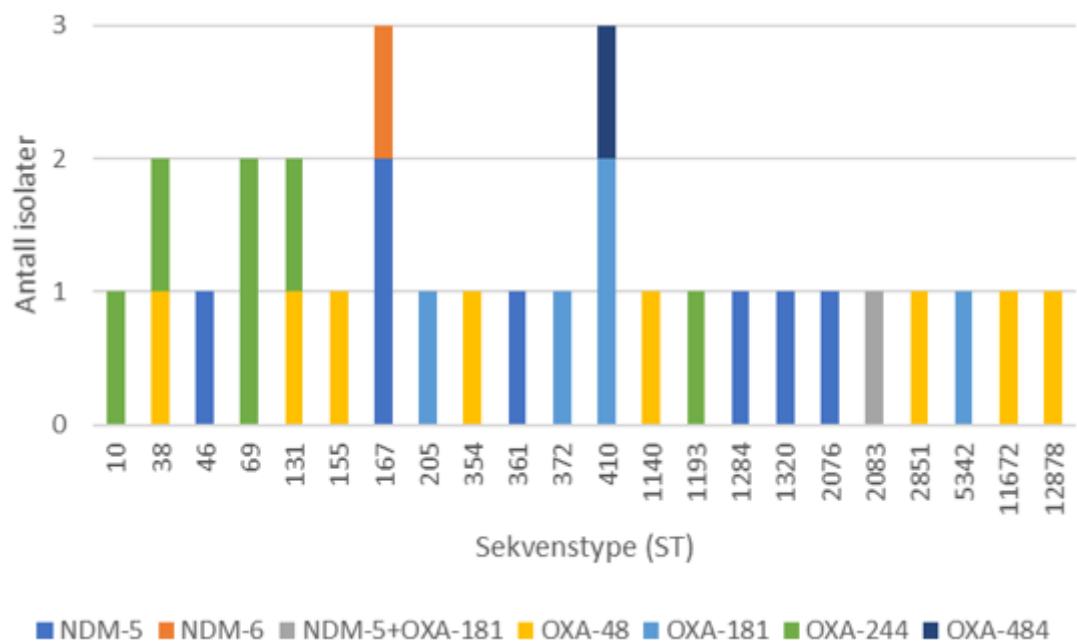
Figur 9. Antall CPE isolater fordelt på bakteriespecies i Norge 2007-2021.

Som tidligere år dominerer OXA-48-variante ($n=42$) etterfulgt av NDM ($n=18$) (Figur 10). Dette inkluderer fire isolater ble det påvist flere enn én karbapenemase (NDM-1 + OXA-181, NDM-5 + OXA-181, NDM-5 + OXA-232 og NDM-1 + KPC-2). Karbapenemasevarianten GES (GES-9) ble for første gang påvist blant CPE isolater i Norge i 2021 i ett *Citrobacter* sp. isolat. IMI (IMI-1 og IMI-4) ble påvist hos to *Enterobacter* sp. isolater. Ett *K. oxytoca* isolat med KPC-2 ble også påvist.

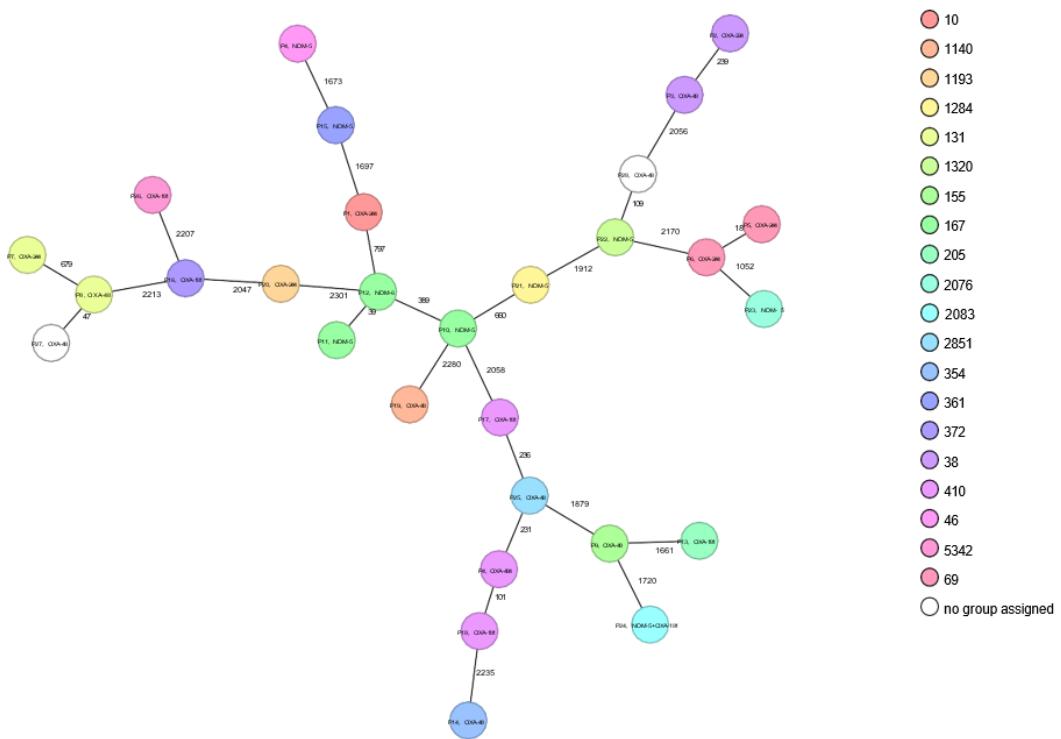


Figur 10. Karbapenemasevarianter blant CPE isolater i Norge 2007-2021.

Generelt viste helgenomsekvensering en stor genetisk diversitet i forhold til ST og karbapenemasegener. *E. coli* isolatene ($n=29$) fordeler seg på 22 forskjellige ST (Figur 11). I kun tre tilfeller ble det påvist samme karbapenemasevariant i isolater av samme ST. Slekskapsanalyse basert på kjernegenommultilokussekvensering (cgMLST) viste ingen nært beslektede isolater (Figur 12). Flere ST, inkludert ST131, ST167, ST410 og ST1193, er kjente globalt utbredte kloner av ekstraintestinale patogene *E. coli* (23).



Figur 11. Fordeling av ST og karbapenemasevariant blant de norske karbapenemaseproduserende *E. coli* isolatene fra 2021.



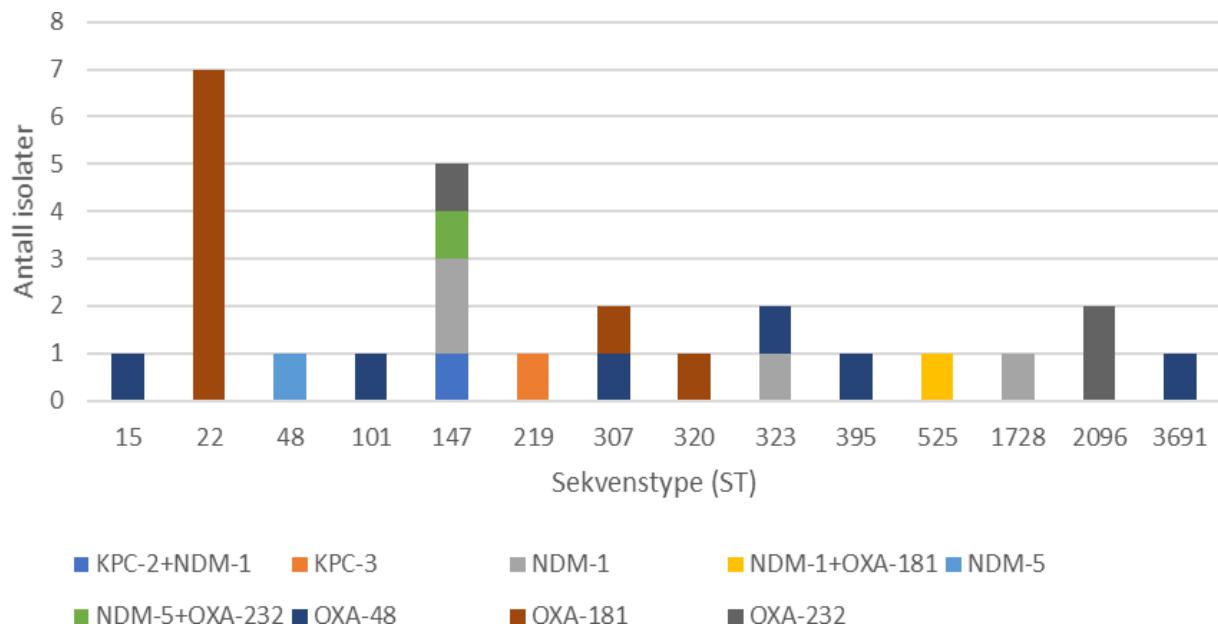
Figur 12. Minimum spanning nettverk av norske karbapenemaseproduserende *E. coli* fra 2021 basert på 2513 kjernegenom alleler med bruk av SeqSphere software og *E. coli* K12 som referansestamme. Isolatene er farget etter ST. Karbapenemasevariant er angitt i sirkel. Antall allel forskjeller angitt mellom isolatene.

Karbapenemaseproduserende *K. pneumoniae* ($n=27$) fordele seg på 14 ST og ni forskjellige karbapenemase-varianter/-kombinasjoner (Figur 13). Syv ST22-OXA-181 isolater ble påvist ved samme sykehus i en tidsperiode på 10 måneder. Slektksapsanalyse basert på cgMLST viste slektskap mellom isolatene (0-7 allelforskjeller) (Figur 14). Singel nukleotidpolymorfisme (SNP) analyse bekreftet nært slektskap (0-9 SNP forskjeller) og epidemiologisk undersøkelse bekreftet spredning og utbrudd.

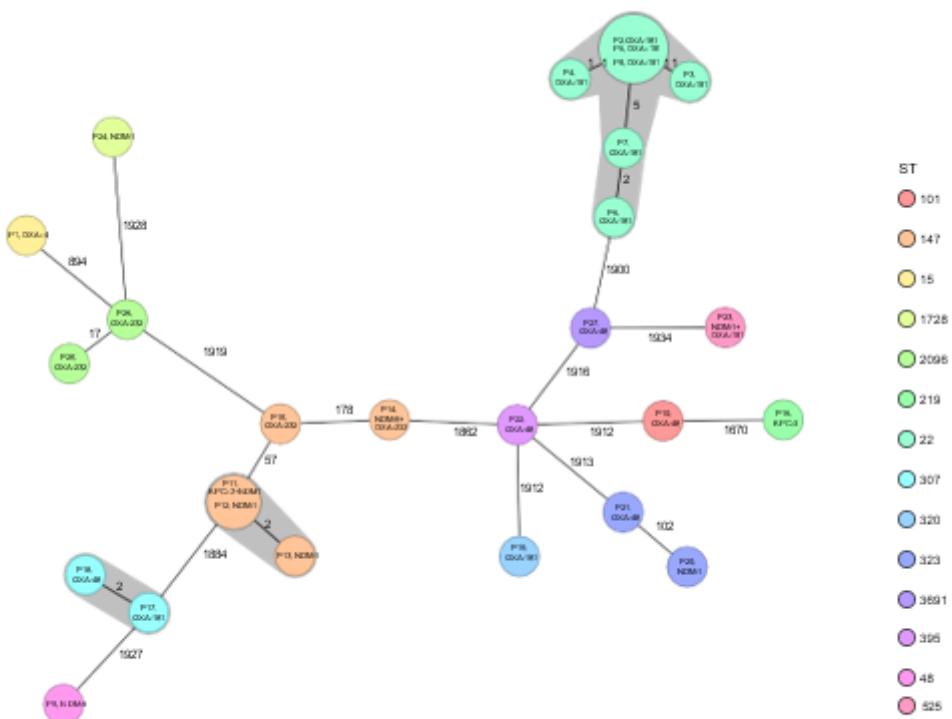
To andre klynger med beslektede isolater basert på cgMLST ble også påvist (Figur 14). To ST147-NDM-1 isolater og ett ST147-NDM-1+KPC-2 viste 0-2 cgMLST allelforskjeller. Isolatene ble påvist over en tidsperiode på ni måneder og fra tre forskjellige laboratorier. SNP analyse bekreftet nært slektskap med 0-3 SNP forskjeller mellom isolatene. Ingen av tilfellene var koblet til import. To ST307 med enten OXA-181 eller OXA-48 påvist ved to forskjellige laboratorier med 3 ukers mellomrom viste 2 cgMLST allelforskjeller. SNP analyse bekrefter nært slektskap med 1 SNP forskjell mellom isolatene. Begge tilfellene var assosiert med import fra henholdsvis Spania og Gran Canaria. For begge klyngene foreligger ingen kjent epidemiologisk kobling mellom tilfellene. Innenlands spredning kan derfor ikke utelukkes.

cgMLST analyse viste også at de to ST2096 isolatene med samme karbapenemasevariant (OXA-232) ikke var assosiert med mulig smittespredning (17 cgMLST allelforskjeller). Isolatene ble påvist ved to forskjellige laboratorier med >2 måneders mellomrom.

Flere av ST variantene (f.eks. ST15, ST101, ST147, og ST307) er kjente globalt utbredte kloner assosiert med spredning av karbapenemasegener (24,25).



Figur 13. Fordeling av ST og karbapenemasevariant blant de norske karbapenemaseproduserende *K. pneumoniae* isolatene fra 2021.



Figur 14. Minimum spanning nettverk av norske karbapenemaseproduserende *K. pneumoniae* fra 2021 basert på 2358 kjernegenom alleler med bruk av SeqSphere software og *K. pneumoniae* NTUH-K2044 som referansestamme. Isolatene er fargekodet etter ST. Karbapenemasevariant er angitt i sirkel. Antall allel forskjeller angitt mellom isolatene. Isolater med ≤15 SNP forskjeller er uthevet med grå markering.

Det ble påvist totalt seks andre karbapenemaseproduserende *Enterobacteriales* i 2021 (Tabell 3) mot fire i 2020. *Enterobacter* sp. OXA-181 isolatet ble påvist hos en pasient med påvist *E. coli* med OXA-181 noe som kan indikere plasmidoverføring i samme pasient.

Tabell 3. ST-karbapenemasevariant kombinasjoner påvist blant *Enterobacter* sp., *K. oxytoca* og *Citrobacter* sp. 2021

Species	ST-karbapenemasevariant kombinasjon
<i>Enterobacter</i> sp. (n=4)	ST901-IMI-1 (n=1); ST1479-NDM-1 (n=1); ST-ukjent-IMI-4 (n=1); ST-ukjent-OXA-181 (n=1)
<i>K. oxytoca</i> (n=1)	ST199-KPC-2
<i>Citrobacter</i> sp. (n=1)	ST116-GES-9

Alle CPE isolater har blitt undersøkt med mikrobuljongfortynning for MIC bestemmelse, med unntak av cefiderocol som ble undersøkt med disk diffusjon. Følsomhetsprofilen for CPE isolatene er beskrevet i Tabell 4. 38% og 34% av isolatene var klinisk resistente for henholdsvis meropenem og imipenem, mens 89% var klinisk resistent mot ertapenem. Seks *E. coli* isolater med OXA-48-variante, inkludert fire isolater med OXA-244, hadde en meropenem MIC verdi under NordicCAST screeningbrytningspunkt (<0,25 mg/L) for undersøkelse for karbapenemaseproduksjon. Det er kjent at OXA-48 variante og spesielt OXA-244 har en relativt lav aktivitet mot karbapenemer (26). Alle isolatene med meropenem MIC under screeningsbrytningspunkt var resistent mot piperacillin-tazobaktam.

Av de nye β-laktam-β-laktamase inhibitor kombinasjonene viste ceftazidim-avibaktam relativt god effekt hvor 73% av isolatene var følsomme. Avibaktam inhiberer OXA-48-variante og KPC, men har ingen effekt mot metallo-β-laktamaser (27). Alle isolatene som var resistent mot ceftazidim-avibaktam var NDM positive. Effekten av vaborbaktam og rebebaktam i kombinasjon med henholdsvis meropenem og imipenem var begrenset. Dette skyldes at vaborbaktam og rebebaktam ikke har aktivitet mot OXA-48-variante og metallo-β-laktamaser (27) som dominerer i Norge.

Cefiderocol er ett nytt siderofor cefalosporin med relativt god stabilitet mot karbapenemaser (28), men 50% av CPE isolatene i Norge ble kategorisert som klinisk resistente mot cefiderocol. Dette inkluderer de isolatene som inngår i EUCAST ATU (area of technical uncertainty) område for cefiderocol. 40% av isolatene hadde en mm sone i dette området. Blant de cefiderocolresistente isolatene hadde 21 isolater en OXA-48 variant, åtte isolater en NDM variant og to isolater både NDM-5 og OXA-181.

En høy andel av koresistens mot andre antibiotika observeres også hvor 82%, 44% og 69% av CPE isolatene var resistente mot henholdsvis ciprofloxacin, gentamicin og trimetoprim-sulfametoksazol. En mindre andel (21%) koresistens mot amikacin ble observert. En høy andel av karbapenemaseproduserende *E. coli* var følsomme for tigesyklin (97%), nitrofurantoin (97%) og fosfomycin p.o. (100%). 90% av CPE isolatene var følsomme for colistin og 82% for fosfomycin i.v.

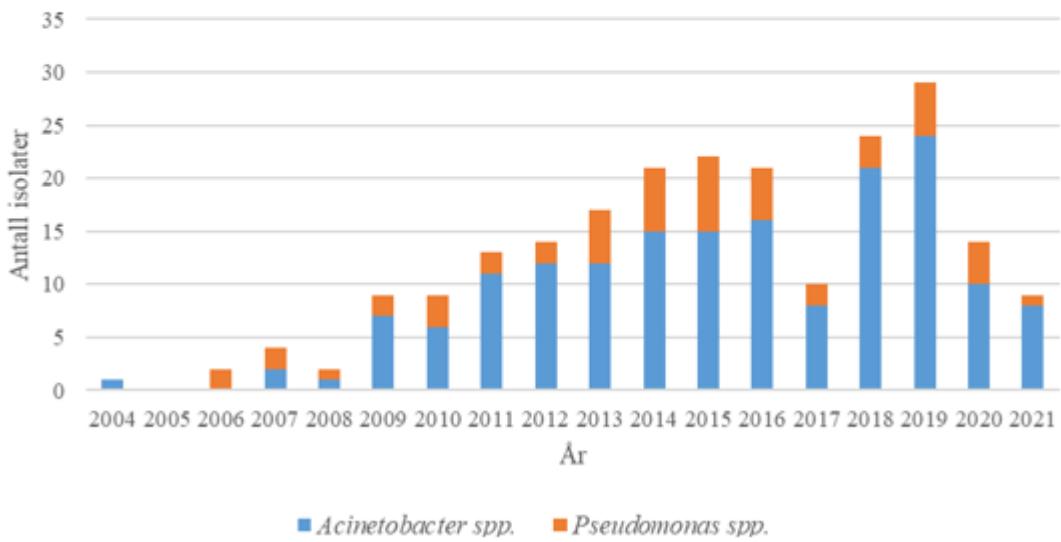
Tabell 4. Proporsjon (%) av følsomhetskategorisering¹ for karbapenemaseproduserende CPE påvist i Norge i 2021

Antibiotika	S	I	R
Piperacillin-tazobaktam	1,6		98,4
Temocillin		8,6	91,4
Cefotaxim	9,7	4,8	85,5
Ceftazidim	11,3	14,5	74,2
Ceftazidim-avibaktam	72,6		27,4
Ceftolozan-tazobaktam	21,0		79,0
Cefiderocol ^{2,3}	50,0		50,0
Cefepim	14,5	16,1	69,4
Aztreonam	17,7	1,6	80,6
Meropenem	51,6	11,3	37,1
Imipenem	51,6	14,5	33,9
Ertapenem	11,3		88,7
Meropenem-vaborbaktam	67,7		32,3
Imipenem-relebaktam	62,9		37,1
Ciprofloxacin	12,9	4,8	82,3
Gentamicin	56,5		43,5
Tobramycin	46,8		53,2
Amikacin	79,0		21,0
Trimetoprim-sulfametoxazol	29,0	1,6	69,4
Tigesyklin ⁴	96,6		3,4
Colistin	90,3		9,7
Nitrofurantoin ⁴	96,6		3,4
Fosfomycin (p.o.) ^{4,5}	100,0		0,0
Fosfomycin (i.v.) ⁵	82,3		17,7

¹ Kategorisering etter NordicCAST brytningspunktstabell v. 12. ² Basert på disk diffusjon. ³ Sonediameter i ATU område (18-22 mm) tolket som resistent ⁴ Gjelder kun *E. coli*. ⁵ Fosfomycin resultat må tolkes med varsomhet. Referansemetoden for fosfomycin MIC bestemmelse er agarfortynning. Enkelte studier har vist manglende korrelasjon mellom buljongfortynnings-MIC og agarfortynnings-MIC hos *Enterobacteriales*. Dette gjelder spesielt *K. pneumoniae* (29,30).

Pseudomonas aeruginosa

Det ble i 2021 påvist ett tilfelle av karbapenemaseproduserende *P. aeruginosa* sammenlignet med fire i 2020 (**Figur 15**). Isolatet var koblet til import og påvist i klinisk prøvemateriale. Det var tilhørende den globale klonen ST235 og kodet for karbapenemasevarianten VIM-4.

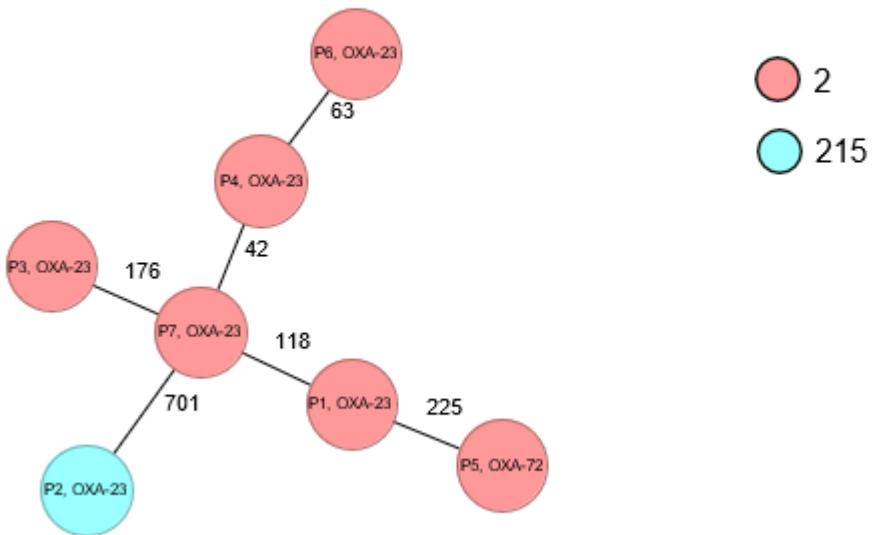


Figur 15. Antall karbapenemaseproduserende *Pseudomonas* spp. og *Acinetobacter* spp. påvist i Norge 2004-2020.

Acinetobacter

Det ble i 2021 påvist 8 tilfeller med karbapenemaseproduserende *Acinetobacter* sp. i Norge mot 10 i 2020 (**Figur 15**). Alle tilfellene var assosiert med import. Syv isolater tilhørte *A. baumannii* hvorav seks av isolatene tilhørte den dominerende globale klonen, ST2 (31) med OXA-23 ($n=5$) eller OXA-72 ($n=1$). Ett *A. baumannii* ST215 isolat med OXA-23 ble identifisert. Ett NDM-1-produserende *Acinetobacter* sp. (sannsynligvis *Acinetobacter indicus*) ble påvist.

Helgenomanalyse viste at ingen av *A. baumannii* isolatene var nært beslektede (≤ 9 allel forskjeller) (**Figur 16**). Det foreligger derfor ingen mistanke om innenlandssmitte av karbapenemaseproduserende *A. baumannii* basert på genetiske slektskapsanalyser og epidemiologiske data.



Figur 16. Minimum spanning nettverk av norske karbapenemaseproduserende *A. baumannii* fra 2021 basert på 2390 kjernegenom alleler med bruk av SeqSphere software og *A. baumannii* ACICU som referansestamme. Isolatene er fargekodet etter ST. Karbapenemasevariant er angitt i sirkel. Antall allel forskjeller angitt mellom isolatene.

Konklusjon: Forekomsten av karbapenemaseproduserende Gram-negative bakterier i 2021 var på omrent samme nivå som i 2020. Dette kan tyde på at reisebegrensningene og smitteverntiltakene i forbindelse med Covid-19 pandemien har begrenset importsmitten til Norge. Helgenomsekvensering viser en stor diversitet av kloner og karbapenemasegener, inkludert representanter av globalt utbredte kloner. Utbruddet med *K. pneumoniae* ST22-OXA-181 (n=7) viser at karbapenemaseproduserende stammer kan få fotfeste i norske sykehus. Påvisning av nært beslektede høy-risiko kloner som ST147-OXA-48/OXA-181 og ST307-NDM-1/NDM-1+KPC-2 uten klar epidemiologisk kobling er bekymringsfullt.

Påvisning av kjente karbapenemaseproduserende høy-risiko kloner som *P. aeruginosa* ST235 og *A. baumannii* ST2 assosiert med import viser at Norge tar del i den globale spredningen av antibiotikaresistens. Det foreligger derfor ingen mistanke om innenlandssmitte av karbapenemaseproduserende *A. baumannii* eller *P. aeruginosa* basert på genetiske slektskapsanalyser og epidemiologiske data.

Overførbar kolistinresistens hos Gram-negative bakterier

Kolistin er i henhold til AFAs anbefalte resistenspaneler (32) ett reservemiddel og hvor testing bør utføres ved resistens mot klinisk relevante første- og andre håndsmidler. Videre er buljongfortynning eneste anbefalte metode for resistensbestemmelse (33) og ikke etablert ved alle laboratorier. Følsomhetstesting for colistin inngår heller ikke i NORM-programmet. Overvåkning av overførbar kolistinresistens er derfor ufullstendig og funn av overførbar kolistinresistens vil være koblet til selekerte tilfeller. K-res utfører rutinemessig følsomhetstesting for kolistin på innsendte isolater med mistanke om karbapenemaseproduksjon og etter spesifikt ønske fra rekvirent. Kolistinresistente isolater gjennomgår PCR-/helgenomanalyse i forhold til overførbare kolistinresistensgener (*mcr*-gener). Andre isolater som gjennomgår helgenomsekvensering uavhengig av kolistinresistens vil også undersøkes for overførbare kolistinresistensgener.

I 2021, ble det ikke påvist overførbare kolistinresistensgener blant undersøkte karbapenemaseproduserende eller andre Gram-negative isolater med helgenomsekvensering.

Konklusjon: Overførbar kolistinresistens er sjeldent i Norge, men overvåkningen er ufullstendig og kun koblet til referanseundersøkelse av selekerte multiresistente stammer.

Referanser

1. Suetens C, Latour K, Kärki T, Ricchizzi E, Kinross P, Moro ML, Jans B, Hopkins S, Hansen S, Lyytikäinen O, Reilly J, Deptula A, Zingg W, Plachouras D, Monnet D L, the Healthcare-Associated Infections Prevalence Study Group, Members of the Healthcare-Associated Infections Prevalence Study Group. Prevalence of healthcare-associated infections, estimated incidence and composite antimicrobial resistance index in acute care hospitals and long-term care facilities: results from two European point prevalence surveys, 2016 to 2017. *Euro Surveill.* 2018;23:pii=1800516. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2018.23.46.1800516.
2. NORM/NORM-VET 2020. Usage of Antimicrobial Agents and Occurrence of Antimicrobial Resistance in Norway. Tromsø / Oslo 2021. ISSN:1502-2307 (print) / 1890-9965 (electronic).
1. García-Solache M, Rice LB. The *Enterococcus*: a model of adaptability to its environment. *Clin Microbiol Rev.* 2019;32(2). doi: 10.1128/CMR.00058-18.
2. Courvalin P. Vancomycin resistance in Gram-positive cocci. *Clin Infect Dis.* 2006;42 Suppl 1:S25-34.
3. Hegstad K, Samuelsen Ø, Hegstad J, Sundsfjord A. 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. 2015. ISBN-13: 978-1-4511-7675-9.
4. Xavier BB, Coppens J, De Koster S, Rajakani SG, Van Goethem S, Mzougui S, Anantharajah A, Lammens C, Loens K, Glupczynski Y, Goossens H, Matheeussen V. Novel vancomycin resistance gene cluster in *Enterococcus faecium* ST1486, Belgium, June 2021. *Euro Surveill.* 2021;26:2100767. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2021.26.36.2100767.
5. European Centre for Disease Prevention and Control and World Health Organization Regional Office for Europe. Antimicrobial resistance surveillance in Europe - 2020 data. Stockholm: ECDC. 2022. doi: 10.2900/112339.
6. Elstrøm P, Astrup E, Hegstad K, Samuelsen Ø, Enger H, Kacelnic 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* 2020;14:e0211741. doi: 10.1371/journal.pone.0211741.
7. 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>.
8. European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Surveillance Atlas of Infectious diseases. 2018. <https://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx?Dataset=27&HealthTopic=4>.
9. Mendes RE, Hogan PA, Jones RN, Sader HS, Flamm RK. Surveillance for linezolid resistance via the ZYvox(R) Annual Appraisal of Potency and Spectrum (ZAAPS) programme (2014): evolving resistance mechanisms with stable susceptibility rates. *J Antimicrob Chemother.* 2016;71:1860-5. doi: 10.1093/jac/dkw052.
10. Bender JK, Cattoir V, Hegstad K, Sadowy E, Coque TM, Westh H, Hammerum AM, Schaffer K, Burns K, Murchan S, Novais C, Freitas AR, Peixe L, Del Grosso M, Pantosti A, Werner G. Update on prevalence and mechanisms of resistance to linezolid, tigecycline and daptomycin in enterococci in Europe: towards a common nomenclature. *Drug Resist Updat.* 2018;40:25-39. doi: 10.1016/j.drup.2018.10.002.
11. Klare I, Fleige C, Geringer U, Thürmer A, Bender J, Mutters NT, Mischnik A, Werner G. Increased frequency of linezolid resistance among clinical *Enterococcus faecium* isolates from German hospital patients. *J Glob Antimicrob Resist.* 2015;3:128-31. doi: 10.1016/j.jgar.2015.02.007.
12. Sadowy E. Linezolid resistance genes and genetic elements enhancing their dissemination in enterococci and streptococci. *Plasmid.* 2018;99:89-98. doi: 10.1016/j.plasmid.2018.09.011.
13. Brenciani A, Fioriti S, Morroni G, Cucco L, Morelli A, Pezzotti G, Paniccià M, Antonelli A, Magistrali CF, Rossolini GM, Giovanetti E. Detection in Italy of a porcine *Enterococcus faecium* isolate carrying the novel phenicol-oxazolidinone-tetracycline resistance gene *poxtA*. *J Antimicrob Chemother.* 2019;74:817-8. doi: 10.1093/jac/dky505.
14. Guerin F, Sassi M, Dejoies L, Zouari A, Schutz S, Potrel S, Auzou M, Collet A, Lecointe D, Auger G, Cattoir V. 2020. Molecular and functional analysis of the novel *cfr(D)* linezolid resistance gene identified in *Enterococcus faecium*. *J Antimicrob Chemother.* 2020 Jul 1;75(7):1699-1703. doi: 10.1093/jac/dkaa125.
15. McGregor JC, Hartung DM, Allen GP, Taplitz RA, Traver R, Tong T, Bearden DT. 2012. Risk factors associated with linezolid-nonsusceptible enterococcal infections. *Am J Infect Control.* 40:886-7. doi: 10.1016/j.ajic.2011.11.005.
16. Beukers AG, Hasman H, Hegstad K, van Hal SJ. 2018. Recommendations to address the difficulties encountered when determining linezolid resistance from whole genome sequencing data. *Antimicrob Agents Chemother.* pii: AAC.00613-18. doi: 10.1128/AAC.00613-18.
17. Marshall SH, Donskey CJ, Hutton-Thomas R, Salata RA, Rice LB. 2002. Gene dosage and linezolid resistance in *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob Agents Chemother.* 46:3334-6. doi: 10.1128/AAC.46.10.3334-3336.2002.
18. Pai MP, Rodvold KA, Schreckenberger PC, Gonzales RD, Petrolatti JM, Quinn JP. Risk factors associated with the development of infection with linezolid- and vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *Clin Infect Dis.*

- 2002;35:1269-72.
19. Hegstad K, Longva J-Å, Hide R, Aasnæs B, Lunde TM, Simonsen GS. 2014. Cluster of linezolid resistant *Enterococcus faecium* ST117 in Norwegian hospital. *Scand J Infect Dis* 46:712-5.
 20. Cassini A, Höglberg LD, Plachouras D, Quattrocchi A, Hoxha A, Simonsen GS, Colomb-Cotinat M, Kretzschmar ME, Devleesschauwer B, Cecchini M, Ouakrim DA, Oliveria TC, Struelens MJ, Suetens C, Monnet DL, Burden of AMR Collaborative Group. Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and European Economic Area in 2015: A population-level modelling analysis. *Lancet Infect Dis*. 2019;19:56-66. doi: 10.1016/S1473-3099(18)30605-4.
 21. Cassini A, Höglberg LD, Plachouras D, Quattrocchi A, Hoxha A, Simonsen GS, Colomb-Cotinat M, Kretzschmar ME, Devleesschauwer B, Cecchini M, Ouakrim DA, Oliveria TC, Struelens MJ, Suetens C, Monnet DL, Burden of AMR Collaborative Group. Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and European Economic Area in 2015: A population-level modelling analysis. *Lancet Infect Dis*. 2019;19:56-66. doi: 10.1016/S1473-3099(18)30605-4.
 22. Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis *Lancet*. 2022;399:629-655. doi: 10.1016/S0140-6736(21)02724-0.
 23. Manges AR, Geum HM, Guo A, Edens TJ, Fibke CD, Pitout JDD. Global extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC) lineages. *Clin Microbiol Rev*. 2019; 32(3):e00135-18. doi: 10.1128/CMR.00135-18.
 24. Wyres KL, Lam MMC, Holt KE. Population genomics of *Klebsiella pneumoniae*. *Nat Rev Microbiol*. 2020;18:344-59. doi: 10.1038/s41579-019-0315-1.
 25. David S, Reuter S, Harris SR, Glasner C, Feltwell T, Argimon S, Abudahab K, Goater R, Giani T, Errico G, Aspbury M, Sjunnebo S; EuSCAPE Working Group; ESGEM Study Group, Feil EJ, Rossolini GM, Aanensen DM, Grundmann H. Epidemic of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in Europe is driven by nosocomial spread. *Nat Microbiol*. 2019;4:1919-1929. doi: 10.1038/s41564-019-0492-8.
 26. Potron A, Poirel L, Dortet L, Nordmann P. Characterisation of OXA-244, a chromosomally-encoded OXA-48-like β-lactamase from *Escherichia coli*. *Int J Antimicrob Agents*. 2016;47:102-3. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2015.10.015.
 27. Bush K, Bradford PA. Interplay between β-lactamases and new β-lactamase inhibitors. *Nat Rev Microbiol*. 2019 May;17(5):295-306. doi: 10.1038/s41579-019-0159-8.
 28. McCreary EK, Heil EL, Tamma PD. New Perspectives on Antimicrobial Agents: Cefiderocol. *Antimicrob Agents Chemother*. 2021;65:e0217120. doi: 10.1128/AAC.02171-20.
 29. Camarlingh G, Parisio EM, Antonelli A, Nardone M, Coppi M, Giani T, Mattei R, Rossolini GM. Discrepancies in fosfomycin susceptibility testing of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* with various commercial methods. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2019 Jan;93(1):74-76. doi: 10.1016/j.diagnmicrobio.2018.07.014.
 30. de Cueto M, López L, Hernández JR, Morillo C, Pascual A. In vitro activity of fosfomycin against extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: comparison of susceptibility testing procedures. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50:368-70. doi: 10.1128/AAC.50.1.368-370.2006.
 31. Hamidian M, Nigro SJ. Emergence, molecular mechanisms and global spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Microb Genom*. 2019;5(10):e000306. doi: 10.1099/mgen.0.000306.
 32. Arbeidsgruppen for antibiotikaspørsmål og metoder for resistensbestemmelse (AFA). AFAs anbefalte resistenspaneler. Versjon 4.1, 2021-02-19. ISBN 978-82-92345-45-0.
<https://unn.no/Documents/Kompetansetjenester,%20sentre%20og%20fagr%C3%A5d/AFA%20-%20arbeidsgruppen%20for%20antibiotikasp%C3%B8rsm%C3%A5l/Resistenspaneler/19.02.21%20AFAs%20anbefalte%20resistenspaneler.pdf>
 33. Matuschek E, Åhman J, Webster C, Kahlmeter G. 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*. 2018;24:865-70. doi: 10.1016/j.cmi.2017.11.020.