

Screening for linezolidresistente enterokokker - litteraturgjennomgang

K-res oppsummerer resultater fra studier hvor selektive medier har vært evaluert for screening etter linezolidresistente enterokokker.

Linezolidresistente enterokokker – forekomst og mekanismer for resistens

Epidemiologi. 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 (1), men økende i mange land (2,3). I NORM rapporten for 2020 ble alle invasive enterokokkisolater (n=1203) kategorisert som S (4). K-res som nasjonalt referanselaboratorium for LRE, har siden det første tilfellet av LRE ble påvist i Norge i 2012 registrert fra ett til 16 tilfeller i året (5). Vi har derfor ikke holdepunkter for at LRE er et større problem i Norge. Slektskapsanalyser og epidemiologiske data har inntil 2021 ikke vist innenlands smittespredning med unntak av en klynge på tre isolater med linezolidresistente *Enterococcus faecium* i 2012-13 (6). I 2021 ble det første sykehusutbrudd med LRE registrert i Norge (K-res data, vil komme i rapport for 2021). Flere laboratorier ønsker å starte LRE-screening etter sporadiske funn og har i den forbindelse etterspurt råd om bruk av LRE-screeningsagar.

Mekanismer. Linezolid binder seg til ribosomet og hemmer bakteriens proteinsyntese. Både kromosomale mutasjonsbaserte endringer i ribosomalt RNA og ribosomale proteiner samt ervervede genprodukter som kjemisk modifierer (metylerer) ribosomet (*cfr*), kan endre ribosomet og hindre at linezolid binder seg. En annen resistensmekanisme skyldes ervervede 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 og gir kryssresistens mot flere typer antibiotika som binder til ribosomet (2,7,8). *Cfr* genet som gir resistens mot linezolid, fenikoler, linkosamider, pleuromutiliner og streptogramin A i f. eks. *E. coli* og stafylokokker synes derimot ikke å mediere linezolidresistens i enterokokker selv om det er uttrykt. Dette skyldes trolig spesifikke ribosomstrukturer hos enterokokker (2, 9). Mutasjonsbasert resistens opptrer oftest etter behandling med oxazolidinoner (10). 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 (11, 12).

Screening

På grunn av den lave forekomsten av linezolidresistens generelt i Gram-positive bakterier (1) har det først de siste årene vært fokus på å utvikle selektive dyrkingsmedia for screening av linezolidresistente Gram-positive bakterier. Vi oppsummerer her resultater fra studier hvor selektive medier har vært brukt for deteksjon av linezolidresistens hos enterokokker (Tabell 1).

Oppsummering og anbefalinger. Det er kun publisert validering av 3 ulike vekstmedier for screening etter linezolidresistente Gram-positive bakterier inkludert LRE. Et kommersielt (Chromagar™ Lin-R) har vært validert i to uavhengige publikasjoner (13, 14) (Tabell 1). Svakheterne ved disse studiene er at valideringen har vært utført på relativt få prøver og på renkultur av bakterier. Derfor er nok sensitivitet og spesifisitet høyere enn man kan forvente ved dyrking direkte fra prøvematerialet. Riktignok ble mediene i disse studiene også brukt

enten til direkte dyrking fra ulike prøvematerialer (Chromagar™ Lin-R (13)), dyrkning av miksede bakteriekulturer (Enterococcosel agar med 2 mg/L linezolid (15)) eller undersøkelse av deteksjonsgrense med spiket avføring (SuperLinezolid (16)). Vekst av linezolidfølsomme bakterier ble funnet på Chromagar™ Lin-R ved direkte dyrking fra prøvemateriale i 36 av 398 tilfeller (9%). Det bekrefter at spesifisiteten er lavere sammenlignet med studien hvor valideringen ble utført på renkultur (13). Referanselaboratoriet for påvisning av LRE i Tyskland har validert to av disse metodene (Enterococcosel agar med 2 mg/L linezolid og Chromagar™ Lin-R). De oppgir at de har gått bort fra å bruke egenkomponerte medier til å bruke den kommersielle agaren (Chromagar™ Lin-R). Det utføres nå en multisenterstudie i Tyskland hvor Chromagar™ Lin-R testes ut i rutine screening av linezolidresistens (Guido Werner, personlig kommunikasjon).

Erfaring fra et norsk laboratorium i uttesting av den kommersielle skåla (Chromagar™ Lin-R) viser også at det blir et ikke ubetydelig antall falske positive som må verifiseres videre (Jørgen V. Bjørnholt, personlig kommunikasjon), men metoden er ikke systematisk validert i dette laboratoriet. Anrikning av enterokokker i Esculin-galle-azidbuljong (Biolife) med atreonam 60 mg/L kan muligens bedre spesifisitet. Tidligere evaluering av fenotypisk påvisning av linezolidresistens hos enterokokker på K-res i samarbeid med EUCAST Development Laboratory har vist at det kan være utfordrende å påvise LRE da noen av stammene med kjente resistensmekanismer kan ha grenseverdier for følsomhet (sone på 20 mm og MIC-verdier på 4 mg/L). Dette kan ytterligere komplisere verifisering av positiv vekst (17).

Det er vanskelig å gi spesifikk anbefaling ut fra informasjonen vi har per i dag, men vi håper at erfaringer fra multisenterstudien i Tyskland eller eventuelle andre nye publikasjoner skal føre til mer konkrete råd.

Tabell 1. Oppsummering av studier på bruk av selektive agarer for LRE-screening

Medium	Prøvemateriale	Andel prøver med linezolidresistens	Sensitivitet (%)	Spesifisitet (%)	Kommentarer	Referanser
Chromagar™ Lin-R (Chromagar)	Renkultur av Gram+ og Gram- isolater og en gjærsopp (n=28)	7/28	100	100	Validert på rendyrkede isolater før brukt til direkte dyrking fra ulike (nasal, groin, rektal) swaber (n=398). Ingen vekst n=354, vekst n=44 hvorav 8 prøver ble bekreftet linezolidresistente	Dembicka et al., 2021 (13)
Chromagar™ Lin-R (Chromagar)	Renkultur av <i>E. faecium</i> (n=39), <i>E. faecalis</i> (n=8), <i>S. aureus</i> (n=17), <i>S. epidermidis</i> (n=50), <i>S. hominis</i> (n=20)	29/39 7/8 14/17 39/50 15/20	100 100 100 97,4 100	100 100 100 100 100	Krevde inkubasjon opptil 48 timer	Layer et al., 2021 (14)
Enterococcosel agar (ECSA Beckton-Dickinson) med 2 mg/L linezolid	Swaber med enterokokker (n=392)	56/392	96,6	94,4	Krevde inkubasjon opptil 48 timer Ved optimalisering av mediet ble også blandede kulturer inkludert <i>E. coli</i> og <i>S. aureus</i> testet ut	Werner et al., 2019 (15)
SuperLinezolid (BHI med 1,5 mg/L linezolid, 2 mg/l Aztreonam, 15 mf/L Colistin sulfat, 5 mg/L Amphotericin B)	<i>Staphylococcus</i> (n=28), <i>Enterococcus</i> (n=9), Gram- (n=11)	17/37 Gram+	82 (24 t) 100 (48 t)	95 (24 t)	Krevde inkubasjon opptil 48 timer Spiket avføring viste deteksjonsgrense på 10 ¹ til 10 ² CFU/ml	Nordmann et al., 2019 (16)

Referanser

1. Mendes RE, Hogan PA, Jones RN, Sader HS, Flamm RK. 2016. 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* 71:1860-5. doi: 10.1093/jac/dkw052.
2. 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. 2018. Update on prevalence and mechanisms of resistance to linezolid, tigecycline and daptomycin in enterococci in Europe: towards a common nomenclature. *Drug Resist Updat* 40:25-39. doi: 10.1016/j.drup.2018.10.002.
3. Klare I, Fleige C, Geringer U, Thürmer A, Bender J, Muters NT, Mischnik A, Werner G. 2015. Increased frequency of linezolid resistance among clinical *Enterococcus faecium* isolates from German hospital patients. *J Glob Antimicrob Resist* 3:128-31. doi: 10.1016/j.jgar.2015.02.007.
4. 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).
5. Hegstad K, Samuelsen Ø, Janice J, Elstrøm P, Kacelnik O, Sundsfjord A. 2021. Forekomst og molekylære genetiske analyser av bakterier med spesielle resistensmønstre i Norge 2020 – rapport fra nasjonalt referanselaboratorium.
6. 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.
7. Sadowy E. 2018. Linezolid resistance genes and genetic elements enhancing their dissemination in enterococci and streptococci. *Plasmid* 99:89-98. doi: 10.1016/j.plasmid.2018.09.011.
8. Brenciani A, Fioriti S, Morrioni G, Cucco L, Morelli A, Pezzotti G, Panicià M, Antonelli A, Magistrali CF, Rossolini GM, Giovanetti E. 2019. Detection in Italy of a porcine *Enterococcus faecium* isolate carrying the novel phenicol-oxazolidinone-tetracycline resistance gene *poxA*. *J Antimicrob Chemother* 74:817-8. doi: 10.1093/jac/dky505.
9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. Dembicka KM, Powell J, O'Connell NH, Hennessy N, Brennan G, Dunne CP. 2021. Prevalence of linezolid-resistant organisms among patients admitted to a tertiary hospital for critical care or dialysis. *Ir J Med Sci*. doi: 10.1007/s11845-021-02773-2
14. Layer F, Weber RE, Fleige C, Strommenger B, Cuny C, Werner G. 2021. Excellent performance of CHROMagar™ LIN-R to selectively screen for linezolid-resistant enterococci and staphylococci. *Diagn Microbiol Infect Dis* 99:115301. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2020.115301
15. Werner G, Fleige C, Klare I, Weber RE, Bender JK. 2019. Validating a screening agar for linezolid-resistant enterococci. *BMC Infect Dis* 19:1078. doi: 10.1186/s12879-019-4711-y
16. Nordmann P, Rodríguez-Villodres A, Poirel L. 2019. A selective culture medium for screening linezolid-resistant gram-positive bacteria. *Diagn Microbiol Infect Dis* 95:1-4. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2019.03.006
17. Haldorsen B, Matuschek E, Åhman J, Kahlmeter G, Sundsfjord A, Hegstad K. 2021. Performance of the EUCAST disc diffusion method and gradient tests in detection of linezolid susceptibility in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*. 31th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Online/Vienna, Austria.