

# Forekomst og molekylære genetiske analyser av bakterier med spesielle resistensmønstre i Norge 2020 – rapport fra nasjonalt referanselaboratorium

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

Kristin Hegstad<sup>1</sup>, Ørjan Samuelsen<sup>1</sup>, Jessin Janice<sup>1</sup>, Petter Elstrøm<sup>2</sup>, Oliver Kacelnik<sup>2</sup> og Arnfinn Sundsfjord<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Nasjonalt kompetansetjeneste for påvisning av antibiotikaresistens (K-res),  
Universitetssykehuset Nord-Norge

<sup>2</sup>Meldingssystem for smittsomme sykdommer (MSIS), Folkehelseinstituttet

 **NASJONAL KOMPETANSETJENESTE**  
for påvisning av antibiotikaresistens



## INNHALDSFORTEGNELSE

SAMMENDRAG .....	2
SUMMARY .....	3
BAKGRUNN .....	4
VANKOMYCINRESISTENTE ENTEROKOKKER.....	4
LINEZOLIDRESISTENTE ENTEROKOKKER.....	8
KARBAPENEMASEPRODUSERENDE GRAM-NEGATIVE BAKTERIER.....	11
<i>Enterobacterales</i> .....	11
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	16
<i>Acinetobacter</i> .....	16
OVERFØRBAR KOLISTINRESISTENS HOS GRAM-NEGATIVE BAKTERIER.....	18
REFERANSER .....	19

## Sammendrag

Det ble rapportert 75 **vankomycinresistente enterokokker** (VRE) i Norge i 2020. Dette representerer en betydelig nedgang (63%) fra 2019. Nedgangen er markert i Helse Vest og Helse Sør-Øst. K-res presenterer genomdata for 33 av isolatene. Majoriteten av VRE var *Enterococcus faecium* med *vanA* genotype. Både *vanA* og *vanB* *E. faecium* var i stor grad knyttet til utbrudd og mindre klynger. Majoriteten av VRE *E. faecium* tilhørte globalt utbredte sykehusadapterte kloner (ST17, ST80, ST117, ST203 og ST787).

Forekomsten av **linezolidresistente enterokokker** (LRE) i Norge er fortsatt lav i 2020 (n=10). *Enterococcus faecalis* med overførbart resistens (*optrA*) var den dominerende LRE-typen. Det foreligger ikke mistanke om innenlands spredning av LRE. Majoriteten av LRE isolatene fra 2020 var fra infeksjoner.

Forekomsten av karbapenemaseproduserende Gram-negative bakterier gikk ned i 2020 sammenlignet med 2019. Den lavere forekomsten skyldes nedgang i antall tilfeller av **karbapenemaseproduserende Enterobacterales** (75 tilfeller i 2019 vs. 57 tilfeller i 2020) og **karbapenemaseproduserende Acinetobacter** (23 tilfeller i 2019 vs. 10 tilfeller i 2020). Forekomsten av **karbapenemaseproduserende Pseudomonas aeruginosa** var på samme nivå (5 tilfeller i 2019 vs. 4 tilfeller i 2020). Genetiske slektskapsanalyser bekreftet kjent utbrudd av OXA-244-produserende *E. coli* ST38 i Bergensregionen som involverte 12 pasienter. Videre ble det påvist nært genetisk slektskap i to andre tilfeller. To tilfeller med *E. coli* ST38-OXA-244 uten epidemiologisk kobling og to tilfeller av *K. pneumoniae* ST392-OXA-48 hvor epidemiologiske data tyder på nosokomial spredning. Utover dette gir ikke slektskapsanalysene holdepunkter for innenlands spredning. Forekomsten er som tidligere år assosiert med en relativt stor diversitet av kloner og karbapenemasegener. Noen kjente globalt utbredte kloner assosierte med spesifikke karbapenemasegener dominerer.

To isolater (*K. pneumoniae* og *Enterobacter* sp.) med **overførbart kolistinresistensgen** (*mcr-9.1*) ble påvist fra samme pasient. Begge isolatene var fenotypisk følsomme for kolistin og karbapenemaseproduserende (*bla<sub>NDM-5</sub>*).

På grunn av korona situasjonen har det ikke vært mulig å kvalitetssikre epidemiologiske data med MSIS.

## Summary

In 2020, the number of identified **vancomycin resistant enterococci** (VRE) in Norway was 75 isolates. This represents a significant decrease (63%) from 2019, which is most evident in the Western and South-East part of the country. In this report, we present genomic data for 33 isolates. The majority of VRE were *Enterococcus faecium* with *vanA*. Both *vanA* and *vanB* *E. faecium* were mainly associated to outbreaks and smaller clusters. Smaller outbreaks and clusters with *vanA* *E. faecium* were also registered. The majority of VRE *E. faecium* belongs to globally dispersed hospital adapted clones (ST17, ST80, ST117, ST203 and ST787).

The prevalence of **linezolid resistant enterococci** (LRE) in Norway is still low in 2020 (n=10). *Enterococcus faecalis* with transferable resistance (*optrA*) was the dominant LRE-variant. There is no evidence of domestic spread of LRE in Norway. The majority of the LRE isolates from 2020 are from infections.

The number of **carbapenemase-producing Gram-negative bacteria** decreased in 2020 compared to 2019. The reduced number was due to less cases of carbapenemase-producing *Enterobacterales* (75 cases in 2019 vs. 57 cases in 2020) and carbapenemase-producing *Acinetobacter* (23 cases in 2019 vs. 10 cases in 2020). The number of carbapenemase-producing *Pseudomonas aeruginosa* was at the same level (5 cases in 2019 and 4 cases in 2020). Phylogenetic analysis confirmed an outbreak of OXA-244-producing *E. coli* ST38 involving 12 patients. Additionally, close genetic relationship between isolates were found in two other cases. Two isolates of *E. coli* ST38-OXA-244, unrelated to the outbreak, were identified without an epidemiological connection. The other case included two *K. pneumoniae* ST392-OXA-48 isolates were the epidemiological data confirmed nosocomial spread. In general, the cases of carbapenemase-producing Gram-negatives in Norway is associated with a relatively large diversity of clones and carbapenemase genes, including globally disseminated clones associated with specific carbapenemase genes.

Two isolates NDM-5-producing *K. pneumoniae* and *Enterobacter* sp. harbouring plasmid-mediated colistin resistance (*mcr-9.1*) was identified from the same patient. Both isolates was colistin susceptible.

Due to the Covid-19 situation, verification of epidemiological data with the Norwegian Surveillance System for Communicable Diseases (MSIS) has not been possible.

## Bakgrunn

Smittebærertilstand eller infeksjoner med VRE, LRE, karbapenemaseproduserende Gram-negative bakterier (*Enterobacterales*, *Pseudomonas* og *Acinetobacter*) og Gram-negative bakterier med overførbart 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 området<sup>1</sup>. 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, karbapenemaseproduserende Gram-negative bakterier og Gram-negative bakterier med overførbart kolistinresistens i Norge for 2020.

## Vankomycinresistente enterokokker

Enterokokker er den tredje 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).

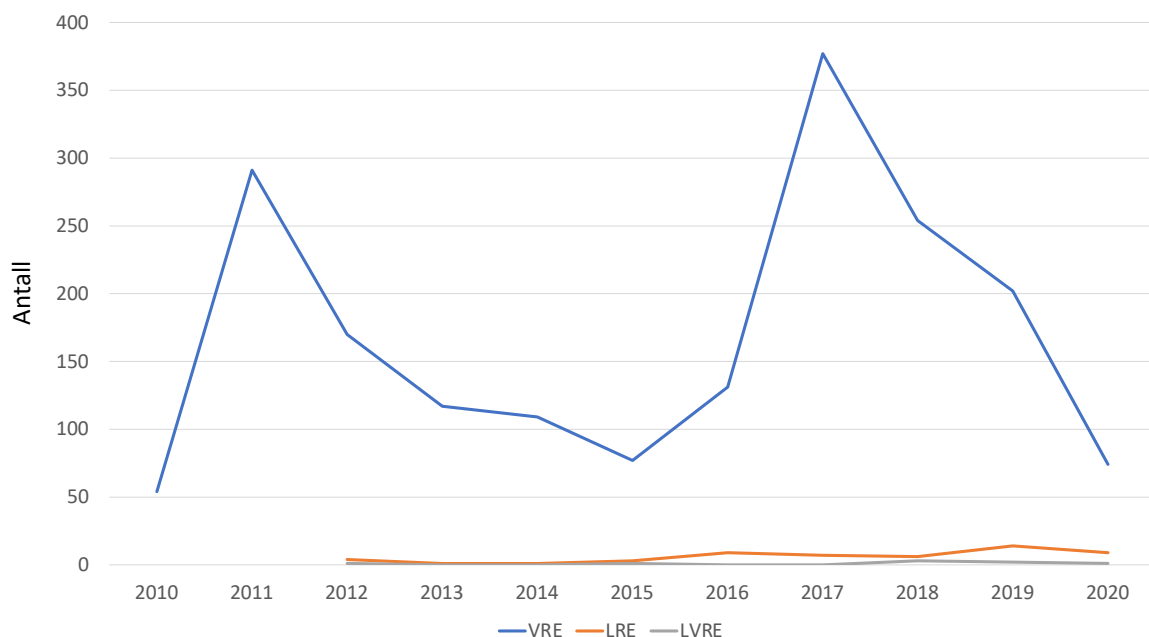
Vankomycinresistens hos enterokokker skyldes genklustre som bidrar til å endre peptidsidekjedeendene som er viktige for kryssbinding i celleveggen, slik at vankomycin ikke kan binde seg til disse (4). Per i dag kjenner vi til 9 ulike genklustre (*vanA*, *vanB*, *vanC*, *vanD*, *vanE*, *vanG*, *vanL*, *vanM* og *vanN*) 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).

VRE er meldepliktige til MSIS. Ved K-res bekrefter vi resistensfenotypen ved funn av diskrepans mellom feno- og genotype med referansemetoden (mikrobuljongfortynning) og utfører genetisk karakterisering med PCR og helgenomsekvensering (HGS) på selekterte isolater 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* de siste årene (6). I Norge har insidensen av VRE variert noe de siste 10 årene (Figur 1). I 2020 ble det registrert 74 VRE pluss en VRE som også var linezolidresistent (LVRE) i Norge (Figur 1). Dette representerer en betydelig nedgang (63% mindre) fra 2019. K-res har mottatt isolater og/eller HGS data på 33/75 (44%). Dette er derfor ikke en fullstendig oversikt over VRE-situasjonen i Norge, men vi kan se noen trender. For oversikt over fordeling av VRE inkludert LVRE på helseregioner og antall K-res har HGS data på se Tabell 1.

---

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

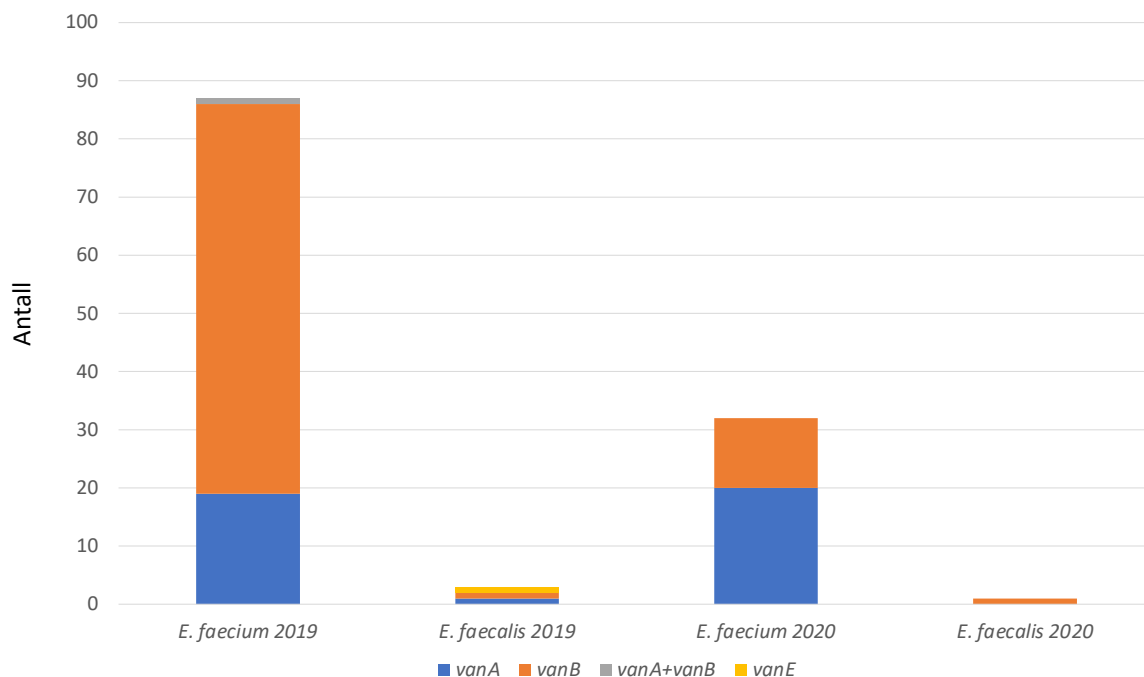


**Figur 1. Antall vankomycinresistente (VRE), linezolidresistente (LRE) og både vankomycin- og linezolidresistente (LVRE) enterokokker i Norge 2010-2020. Kombinerte data fra MSIS.no og K-res.**

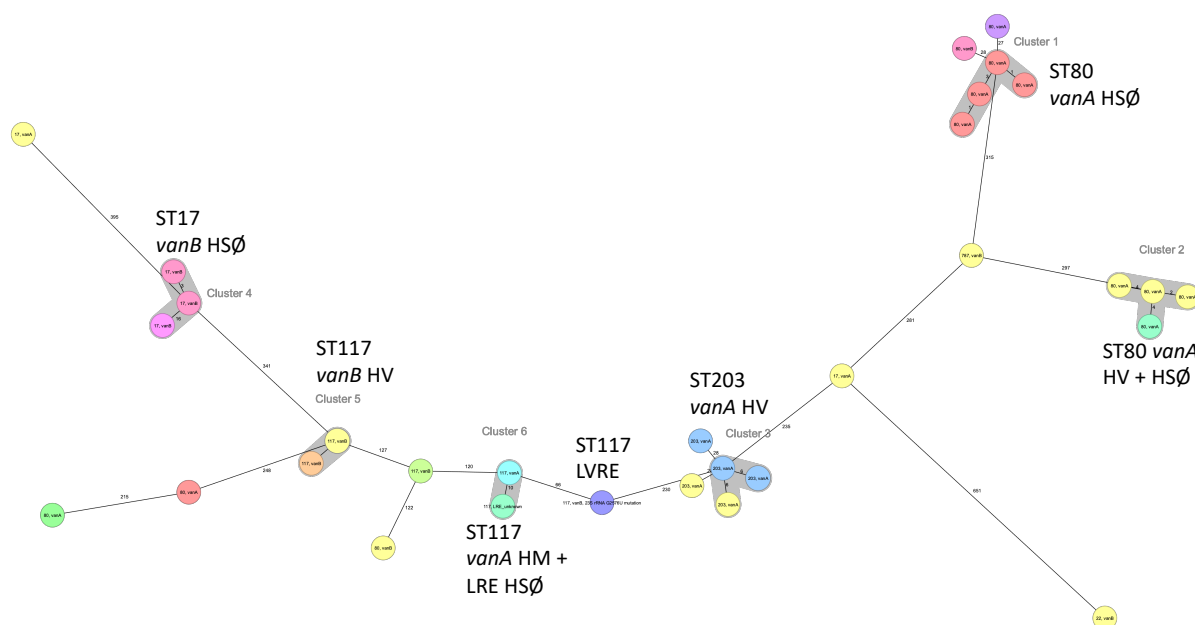
**Tabell 1. Antall VRE+LVRE isolater i Norge for 2019 og 2020 samt HGS data analysert på K-res 2020 fordelt på helseregioner**

Helse region	Antall VRE + LVRE 2019	Antall VRE + LVRE 2020	Antall VRE +LVRE med HGS data analysert på K-res 2020
Helse Sør-Øst	99	44	13
Helse Vest	95	28	17
Helse Midt	1	5	1
Helse Nord	8	6	2
Ukjent	1	1	0

Majoriteten av VRE fra 2020 i Norge er *vanA E. faecium* ( $n=20$ ), mens VRE i Norge tidligere har vært dominert av *vanB E. faecium* (7). Vi finner også *vanB E. faecium* ( $n=12$ ), mens kun ett av VRE isolatene som ble sendt til K-res er *E. faecalis*, genotype *vanB* (Figur 2). Også på verdensbasis er det i mye større grad funnet vankomycinresistente *E. faecium* enn *E. faecalis* (8,9), og *vanA* heller enn *vanB* (5). For Norges vedkommende er både *vanA* og *vanB E. faecium* i stor grad knyttet til mindre utbrudd/klynger i Helse Vest og Helse Sør-Øst, men forekommer også som sporadiske isolater (Figur 3).

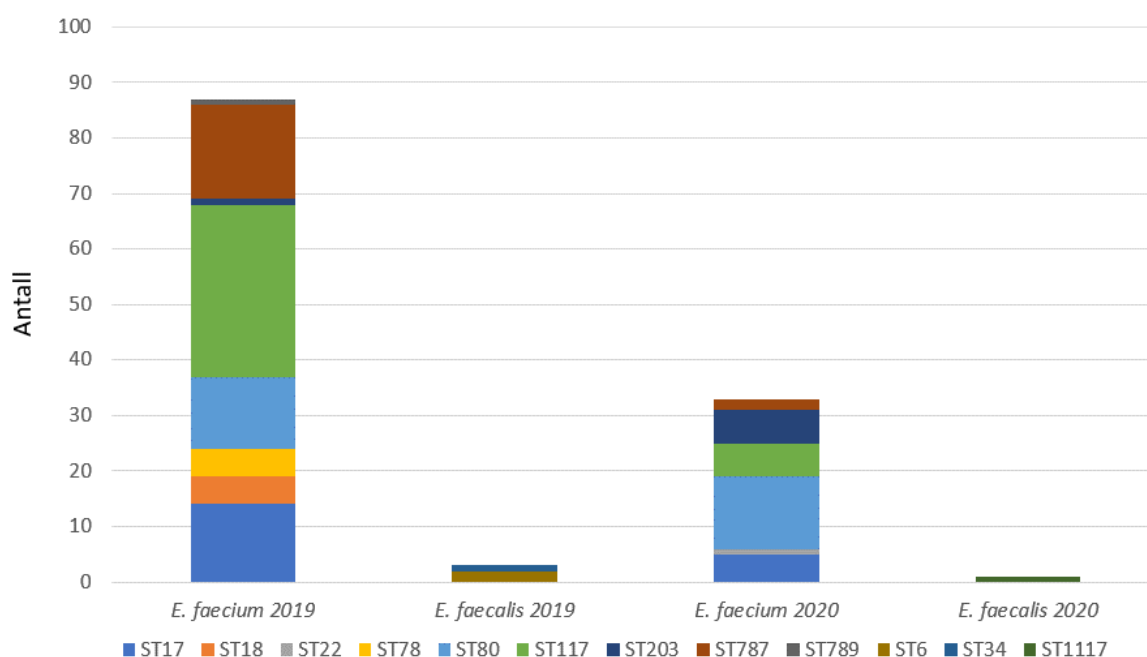


**Figur 2. Fordeling av species og genotype i norske VRE isolater som K-res har helgenomsekvensdata på for 2019 og 2020. Inkluderer også linezolidresistente VRE.**



**Figur 3. Minimum spanning nettverk bygd fra kjernegenom allel profilen på 33 norske *E. faecium* (VRE  $n=31$ , LVRE  $n=1$ , LRE  $n=1$ ) isolater fra 2020 med bruk av SeqSphere software og Aus0004 referansestamme. Isolatene er fargekodet etter primærlaboratorium. Genetisk nært beslektede isolater ( $\leq 20$  SNP forskjeller) er uthevet med grå markering. HSØ = Helse Sør-Øst, HV = Helse Vest, HM = Helse Midt.**

Vi registrerte 8 ulike sekvenstyper (ST) av *E. faecium* i 2019 og 6 i 2020. Sammenlignet med 2019 er det i stor grad de samme ST man finner i 2020, men noen av typene som ble funnet i få isolater i 2019 (ST18, ST78 og ST789) er ikke detektert i 2020. Med unntak av ST22 (n=1) som dukker opp i 2020 (Figur 4), tilhører ST kjente sykehusadapterte kloner (ST17, ST80, ST117, ST203 og ST787) som man finner i mange land. ST22 er tidligere assosiert både med pasienter i sykehus og ulike dyr (10,11). De meste dominante ST i *E. faecium* i 2020 er knyttet til utbrudd/genetiske klynger slik som *vanB* ST17 i Helse Sør-Øst, to ulike klynger med *vanA* ST80 i Helse Sør-Øst og Helse Vest, samt *vanB* ST117 og *vanA* ST203 i Helse Vest (Figur 3). For *E. faecalis* ble det registrert to ulike ST i 2019 hvorav ST6 ofte er knyttet til kliniske isolater og sykehus, mens det i 2020 ble registrert en ny type (ST1117) som ikke har vært beskrevet før (Figur 4).



**Figur 4. Fordeling av species og ST i norske VRE isolater som K-res har helgenomsekvensdata på for 2019 og 2020.**

**Konklusjon:** Det ble rapportert 75 pasienter med VRE til MSIS i Norge i 2020. Dette representerer en betydelig nedgang (63%) fra 2019. Nedgangen er markert i Helse Vest og Helse Sør-Øst. K-res presenterer genomdata for 33 av isolatene. Majoriteten av VRE er *E. faecium* med *vanA* genotype. Både *vanA* og *vanB* *E. faecium* er i stor grad knyttet til mindre utbrudd i Helse Vest og Helse Sør-Øst, men forekommer også som sporadiske isolater. Majoriteten av VRE *E. faecium* tilhører utbredte sykehusadapterte kloner som har vært rapportert i mange land (ST17, ST80, ST117, ST203 og ST787).



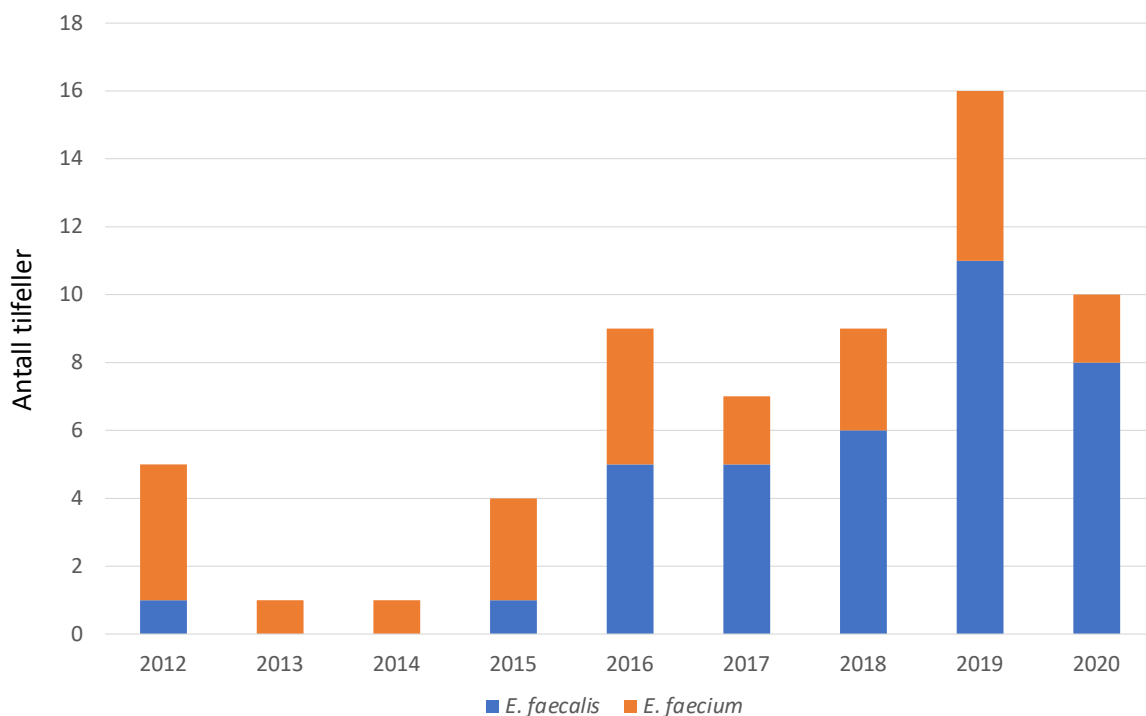
## Linezolidresistente enterokokker

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 (12), men økende i mange land (13,14).

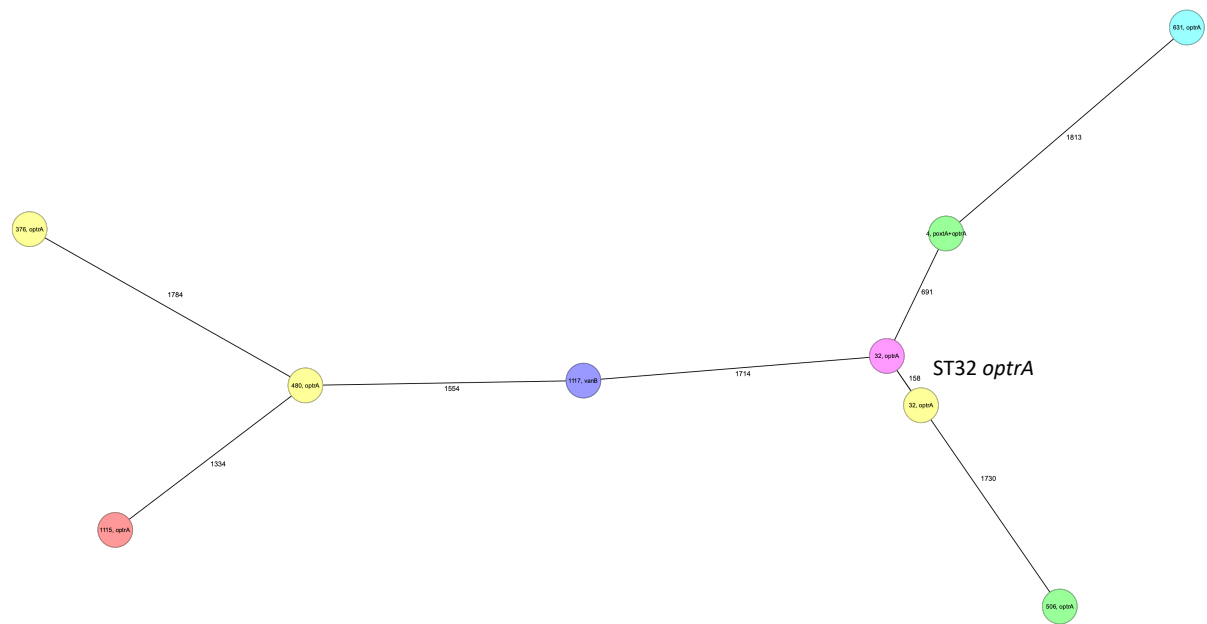
Linezolid binder seg til ribosomet og hemmer bakteriens proteinsyntese. Både mutasjonsbaserte endringer i ribosomalt RNA og ribosomale proteiner samt genprodukter som kjemisk modifiserer (metylerer) ribosomet (*cfp*), kan endre ribosomet og hindre at linezolid binder seg. En annen type resistensmekanisme skyldes gener (*optrA* og *poxA*) som produserer proteiner som beskytter ribosomet mot binding av linezolid. Både *cfp*, *optrA* og *poxA* kan være lokalisert på mobile genetiske elementer (13,15,16).

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 tilrår rutinemessig følsomhetstesting for linezolid av kliniske enterokokkisolater i Norge i sine anbefalte resistenspaneler. Det er usikkert i hvor stor grad dette gjennomføres. I NORM 2019-rapporten ble alle invasive enterokokkisolater (n=1271) kategorisert som S. 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.

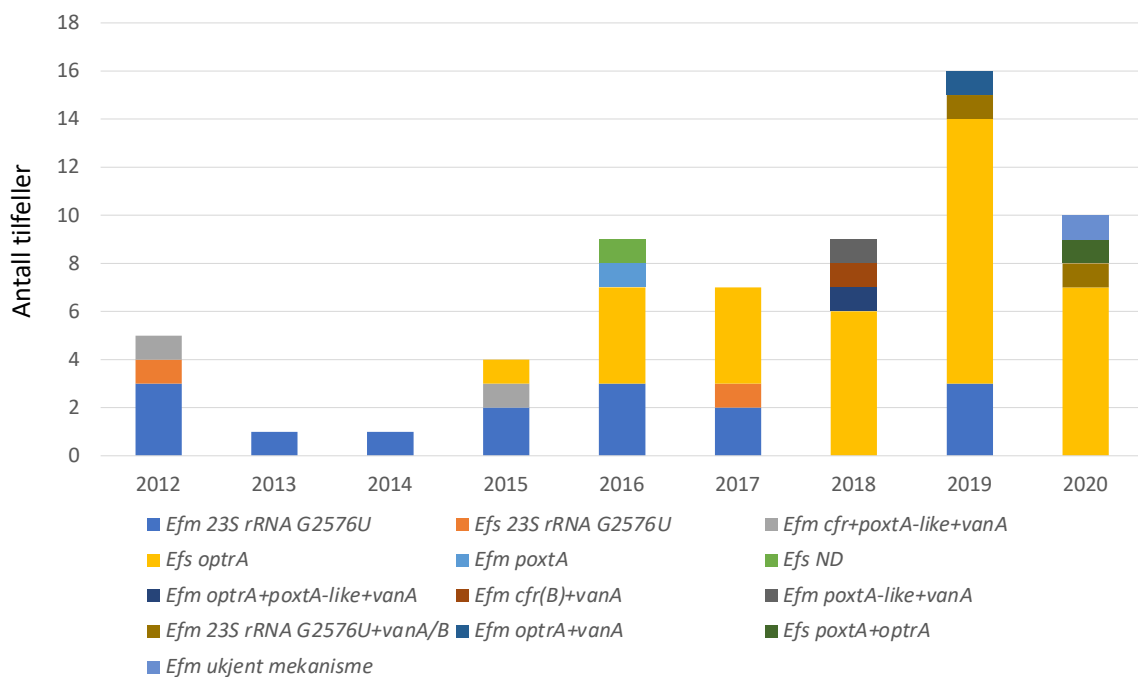
I 2020 ble det påvist 10 tilfeller av LRE i Norge. Dette er seks færre tilfeller sammenlignet med 2019 (Figur 5). Helgenomanalyser av isolater med samme ST har vist at disse ikke er nært beslektede med hverandre (Figur 3 og 6). Speciesdistribusjonen har de siste årene dreid fra *E. faecium* mot flere *E. faecalis*. Økning i *E. faecalis* LRE i Norge f.o.m. 2016 skyldes i hovedsak *E. faecalis* med *optrA* (Figur 7; n=32).



Figur 5. Antall linezolidresistente *E. faecium* og *E. faecalis* i Norge 2012-2020. Oversikten inkluderer også LRE som er vankomycinresistente.



**Figur 6. Minimum spanning nettverk bygd fra kjernegenom allel profilen på 9 norske *E. faecalis* isolater (LRE  $n=8$ , VRE  $n=1$ ) fra 2020 med bruk av SeqSphere software og OG1RF referansestamme. Isolatene er fargekodet etter primærlaboratorium. Ingen av isolatene var genetisk nært beslektede isolater. Det vil si at de hadde  $> 7$  SNP forskjeller. De to ST32 isolatene hadde 158 SNP forskjeller.**



**Figur 7. 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*.**

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 (17). I 2020 ble det påvist to linezolidresistente *E. faecium* hvorav ett isolat hadde mutasjonsbasert og det andre en ukjent resistensmekanisme. Av *E. faecalis* isolatene ( $n=8$ ) hadde syv *optrA* og ett både *optrA* og *poxxA* (Figur 7). Åtte av LRE-isolatene i 2020 var fra infeksjoner, hvorav seks hadde *optrA*. De resterende to var bærerisolater. Kun ett isolat var assosiert med kjent import, men det foreligger manglende opplysninger om import for syv isolater. *E. faecium*-isolatene var begge ST117, en kjent sykehusassosiert sekvensstype. *E. faecalis* isolatene ( $n=8$ ) tilhørte 7 ulike ST hvorav ST32 ble funnet i to isolater (Tabell 2).

**Tabell 2. Species, resistensmekanisme og sekvensstype blant LRE isolater i Norge 2020**

Species	Resistensmekanisme	ST
<i>E. faecalis</i> ( $n=8$ )	<i>optrA</i> ( $n=7$ )	ST32 ( $n=2$ ); ST376 ( $n=1$ ); ST480 ( $n=1$ ); ST506 ( $n=1$ ); ST631 ( $n=1$ ); ST1115 ( $n=1$ )
<i>E. faecium</i> ( $n=2$ )	<i>optrA</i> + <i>poxxA</i> ( $n=1$ )	ST4 ( $n=1$ )
	23S rRNA G2576U mutasjon ( $n=1$ ); ukjent mekanisme ( $n=1$ )	ST117 ( $n=2$ )

**Konklusjon:** Antallet nye pasienter med LRE er fortsatt lavt. Det var seks færre meldte tilfeller av LRE i 2020 ( $n=10$ ) sammenlignet med 2019. Det har siden 2016 vært en dreining fra funn av *E. faecium* med mutasjonsbasert linezolidresistens til funn av LRE med overførbare resistensmekanismer dominert av *E. faecalis* med *optrA*. Slektskapsanalyser og epidemiologiske data viser at dreiningen mot funn av LRE med overførbare resistensmekanismer ikke skyldes innenlands smittespredning. Majoriteten av LRE isolatene fra 2020 var fra infeksjoner.

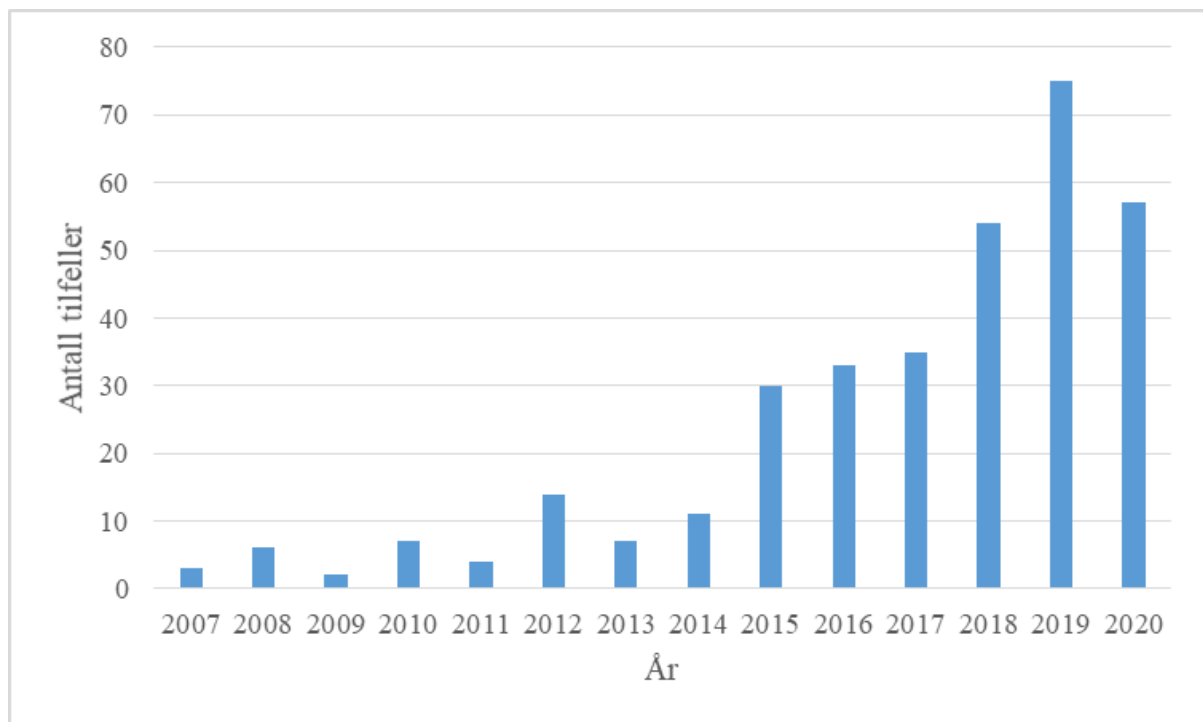
## Karbapenemaseproduserende Gram-negative bakterier

Karbapenemresistens hos Gram-negative er en av de største bidragsyterne til sykdomsbyrden forårsaket av antibiotikaresistens og forekomsten er økende (18). Den epidemiologisk viktigste resistensmekanismen for karbapenemresistens er karbapenemaser –  $\beta$ -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.

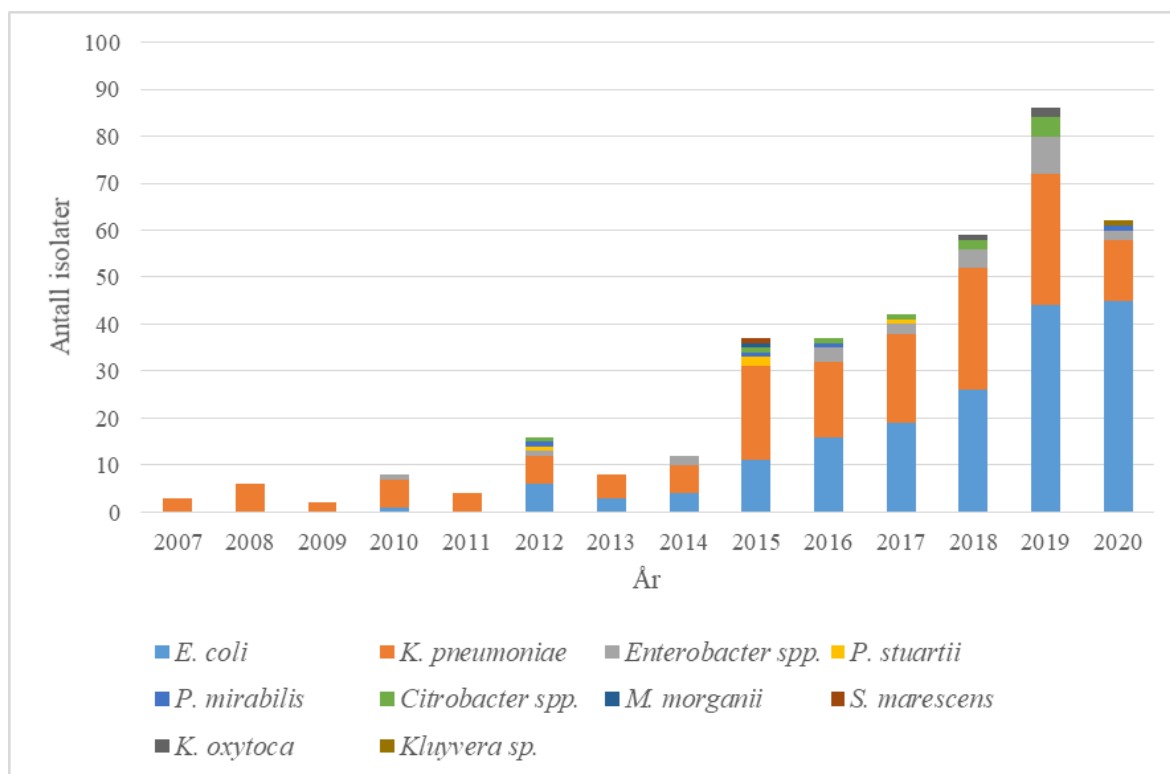
### *Enterobacterales*

I 2020 ble det identifisert 57 pasienter med påvist karbapenemaseproduserende *Enterobacterales* (CPE) (Figur 8). Dette er en nedgang fra 75 tilfeller i 2019.

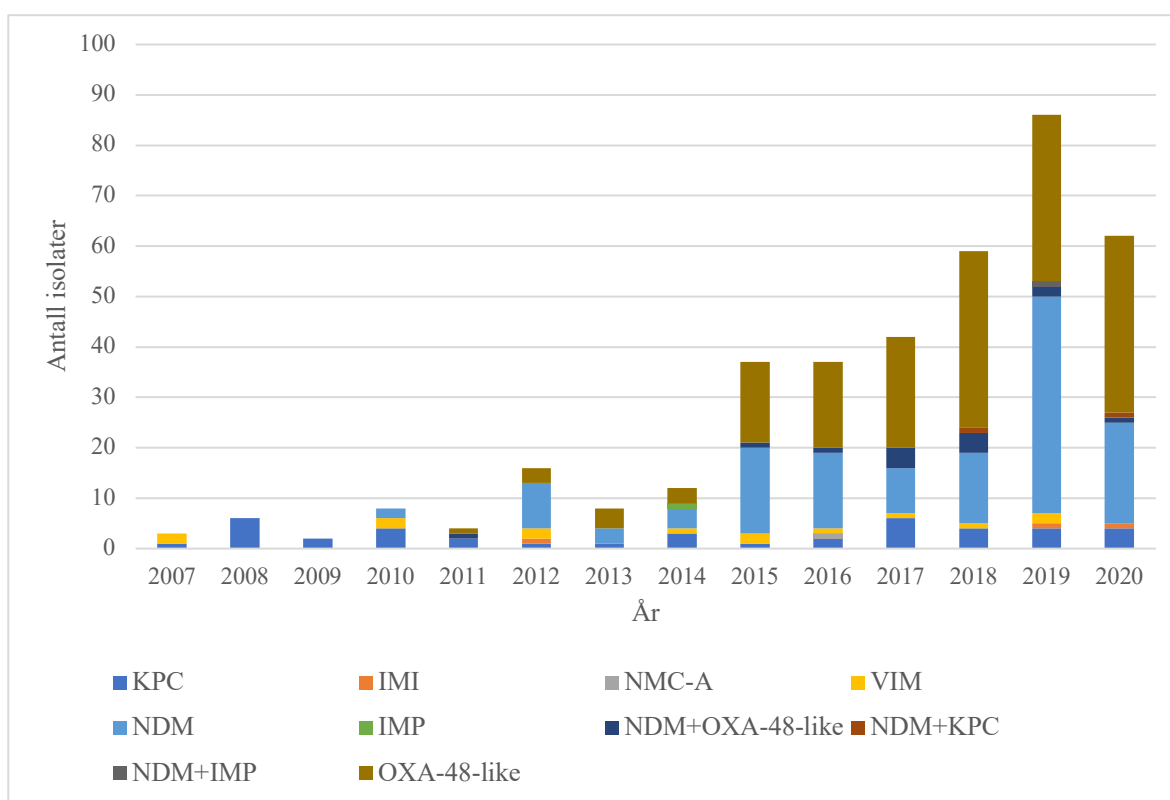
Totalt ble det påvist 62 CPE-isolater. Hos fem pasienter ble det påvist mer enn ett CPE-isolat av forskjellige species/karbapenemasegener eller samme species med forskjellige sekvenstyper (ST). Antall *Escherichia coli* ( $n=45$ ) i 2020 var som i 2019 ( $n=44$ ), mens antallet *Klebsiella pneumoniae* gikk ned i 2020 ( $n=13$ ) sammenlignet med 2019 ( $n=28$ ) (Figur 9). To karbapenemaseproduserende *Enterobacter* sp. og henholdsvis ett *Proteus mirabilis* og ett *Kluyvera* sp. isolat ble identifisert.



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



Figur 9. Antall CPE isolater fordelt på bakteriespecies i Norge 2007-2020.



Figur 10. Karbapenemasevarianter blant CPE isolater i Norge 2007-2020.

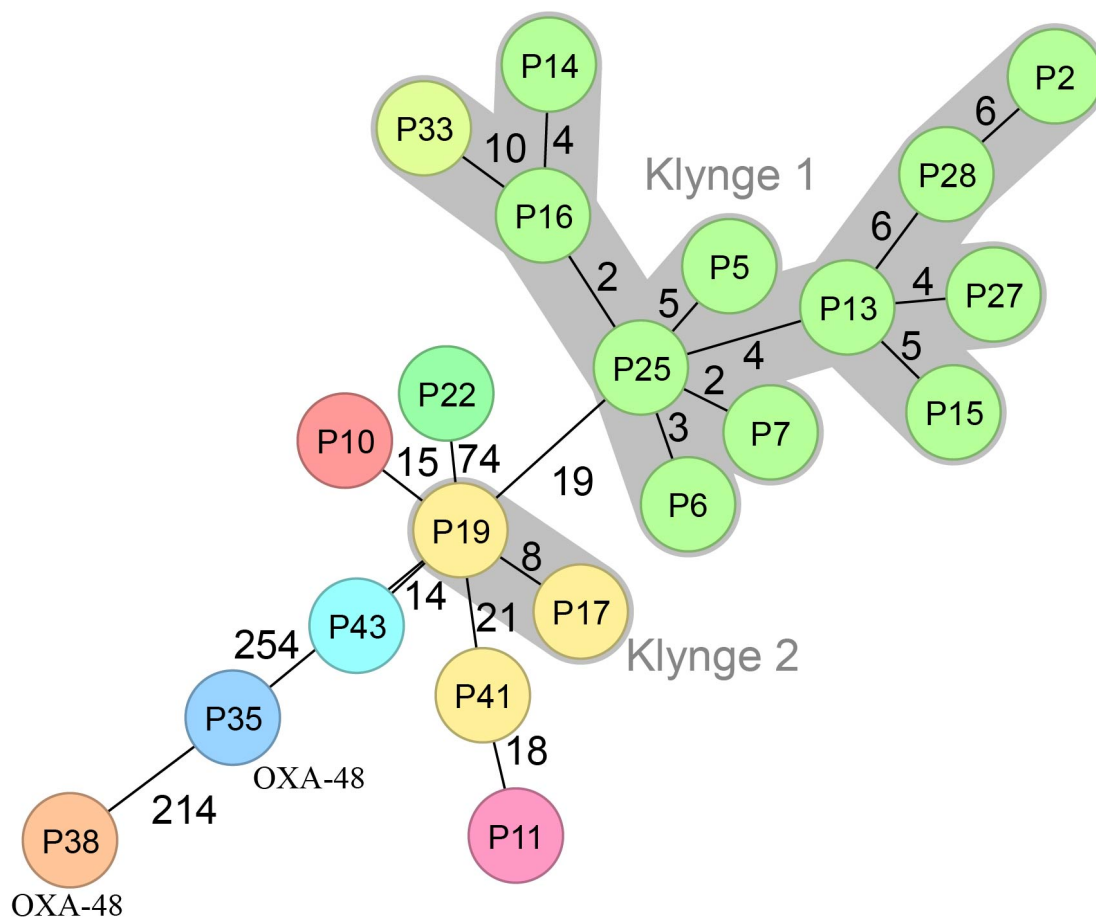
I forhold til karbapenemasevarianter (Figur 10) gikk antallet isolater med NDM i 2020 ( $n=22$ ) ned i forhold til 2019 ( $n=46$ ). Antallet isolater med OXA-48-varianter var stabilt sammenlignet med 2019 (36 isolater i 2020 og 35 i 2019). Hos to isolater ble det påvist flere enn en karbapenemase. Dette inkluderer ett *K. pneumoniae* isolat med både NDM og OXA-232 samt ett *E. coli* isolat med både NDM og KPC.

Generelt viste helgenomsekvensering en relativt stor genetisk diversitet i forhold til ST og karbapenemasegener. *E. coli* isolatene fordelte seg på 19 forskjellige ST (Tabell 3).

**Tabell 3. ST-karbapenemasevariant kombinasjoner påvist blant *E. coli* i 2020**

ST	Karbapenemasevariant
ST38	OXA-244 ( $n=19$ ); OXA-48 ( $n=2$ )
ST46	NDM-5 ( $n=1$ )
ST69	OXA-244 ( $n=2$ )
ST90	OXA-181 ( $n=1$ )
ST129	NDM-5 ( $n=1$ )
ST131	OXA-181 ( $n=1$ )
ST167	NDM-5 ( $n=2$ )
ST205	OXA-181 ( $n=1$ )
ST294	OXA-48 ( $n=1$ )
ST361	NDM-5+KPC-3 ( $n=1$ ); NDM-5 ( $n=1$ )
ST405	NDM-5 ( $n=1$ )
ST617	NDM-5 ( $n=1$ ); OXA-244 ( $n=1$ )
ST1643	NDM-1 ( $n=1$ )
ST1702	NDM-5 ( $n=1$ )
ST2851	NDM-5 ( $n=1$ )
ST5415	NDM-5 ( $n=1$ )
ST8346	NDM-5 ( $n=1$ )
ST-ukjent	NDM-5 ( $n=2$ )

*E. coli* ST38 med OXA-244 var den dominerende kombinasjonen påvist hos 19 pasienter. I tillegg ble *E. coli* ST38 med OXA-48 påvist hos to pasienter. Slektskapsanalyse viste to klynger av genetisk nært beslektede *E. coli* ST38-OXA-244 isolater (Figur 11). Den ene klyngen representerte et utbrudd i Bergensregionen som inkluderte tre lokalisasjoner og 12 pasienter. Seks av isolatene ble påvist i klinisk prøvemateriale og seks ble påvist via smitteoppsporing. Utbruddet har tidligere vært kommunisert (<https://unn.no/fag-og-forskning/k-res/utbrudd-med-oxa-244-karbapenemase-produserende-e-coli-rundt-bergen>) og en detaljert analyse pågår. Den andre klyngen inkluderte to isolater påvist ved samme laboratorium fra to forskjellige pasienter med ca. 2 måneders mellomrom. Epidemiologiske data gav ingen holdepunkter for noen kobling mellom de to pasientene. Forekomsten av *E. coli* ST38-OXA-244 kombinasjonen har i de senere år vært økende i Europa (19), og det er påvist spredning av denne i flere land og på tvers av landegrenser (20-22).



**Figur 11. Minimum spanning nettverk bygd fra kjernegenom allel profilen på de norske karbapenemaseproduserende *E. coli* ST38 isolatene fra 2020 med bruk av SeqSphere software og *E. coli* K12 som referansestamme. Isolatene er fargekodet etter primærlaboratorium. Genetisk nært beslektede isolater ( $\leq 10$  SNP forskjeller) er uthevet med grå markering. Isolater med OXA-48 (P35 og P38) er angitt. OXA-244 ble påvist hos alle andre isolater.**

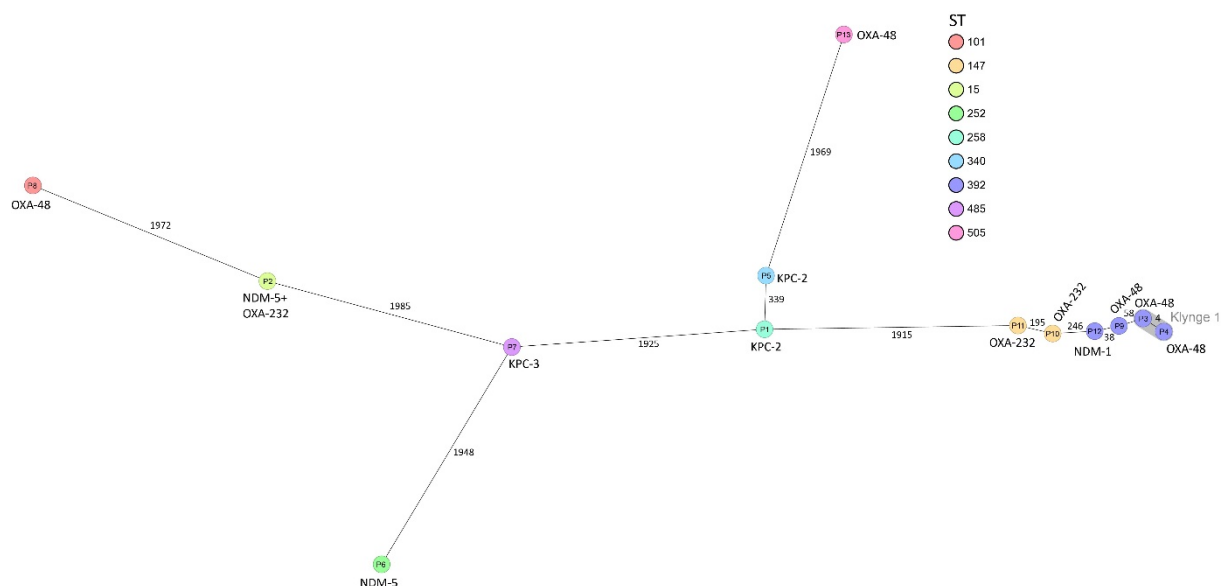
OXA-244 er en Ambler klasse D serin  $\beta$ -laktamase som tilhører OXA-48 gruppen av karbapenemaser (23). OXA-48 karbapenemaser karakteriseres av høygradig aktivitet mot penicilliner (f.eks. temocillin og piperacillin), begrenset eller ingen aktivitet mot ekstendert spektrum cefalosporiner (f.eks. ceftazidim og cefotaksim) og lavgradig aktivitet mot karbapenemer (f.eks. meropenem og imipenem). Videre blir ikke OXA-48 karbapenemaser hemmet av klassiske  $\beta$ -laktamase inhibitorer som klavulansyre og tazobaktam. OXA-244 skiller seg fra OXA-48 med en aminosyre variasjon som fører til nedsatt aktivitet mot karbapenemer og temocillin (24). Dette fører til diagnostiske utfordringer. Fenotypisk påvisning av OXA-48 karbapenemaser har basert seg på høygradig temocillin resistens (MIC  $>128$  mg/L eller sonediameter  $<12$  mm), men siden OXA-244 har lavere aktivitet mot temocillin (25) har NordicAST nå endret algoritmen for påvisning av karbapenemaser (26). Laboratorier må også være oppmerksom på utfordringer i forhold til påvisning av OXA-244 isolater ved bruk av kromogene screeningsagarer. Flere studier viser stor forskjell i kromogene mediers egenskaper for påvisning av OXA-244 isolater (25,27,28).

Utover dette ble det ikke påvist andre genetisk nært beslektede isolater blant de karbapenemaseproduserende *E. coli* påvist i 2020. Flere av de andre påviste ST, inkludert ST131, ST167, ST405 og ST648, er kjente globalt utbredte kloner av ekstraintestinale patogene *E. coli* (29).

Karbapenemaseproduserende *K. pneumoniae* ( $n=13$ ) fordelte seg på 9 ST og 5 forskjellige karbapenemasevarianter (Tabell 4, Figur 12). ST392-OXA-48 ( $n=3$ ) og ST147-OXA-232 ( $n=2$ ) var de eneste ST-karbapenemasevariant kombinasjonene som ble påvist i flere enn ett tilfelle. Klonal spredning ble påvist for to av ST392-OXA-48 isolatene (4 SNP forskjeller) ved samme helseforetak (Figur 12). Epidemiologisk undersøkelse viste kobling mellom pasientene. Det tredje ST392-OXA-48 isolatet ble identifisert ved et annet helseforetak og var ikke beslektet (58-62 SNP forskjeller) med de andre to ST392-OXA-48 isolatene. ST392-OXA-244 er assosiert med import fra Gran-Canaria og har tidligere vært påvist i Norge og Sverige (30). ST147-OXA-232 isolatene ble påvist ved to forskjellige laboratorier i samme helseforetak (ca. 4 måneders mellomrom), men var ikke nært beslektede med hverandre (195 SNP). Flere av ST variantene (f.eks. ST15, ST101, ST147, ST258, ST340 og ST392) er kjente globalt utbredte kloner assosiert med spredning av karbapenemasegener (31,32).

**Tabell 4. ST-karbapenemasevariant kombinasjoner påvist blant *K. pneumoniae* i 2020**

ST	Karbapenemasevariant
ST15	NDM-5+OXA-232 ( $n=1$ )
ST101	OXA-48 ( $n=1$ )
ST147	OXA-232 ( $n=2$ )
ST252	NDM-5 ( $n=1$ )
ST258	KPC-2 ( $n=1$ )
ST340	KPC-2 ( $n=1$ )
ST392	OXA-48 ( $n=3$ ); NDM-1 ( $n=1$ )
ST485	KPC-3 ( $n=1$ )
ST505	OXA-48 ( $n=1$ )



**Figur 12. Minimum spanning nettverk bygd fra kjernegenom allel profilen på de norske karbapenemaseproduserende *K. pneumoniae* fra 2020 med bruk av SeqSphere software og *K. pneumoniae* NTUH-K2044 som referansestamme. Isolatene er fargekodet etter ST. Genetisk nært beslektede isolater ( $\leq 15$  SNP forskjeller) er uthevet med grå markering. Karbapenemasevariant inkludert ved hvert tilfelle.**



Det ble påvist totalt fire andre karbapenemaseproduserende *Enterobacterales* i 2020 (Tabell 5) mot 14 i 2019. *Enterobacter* sp. ST93-NDM-5 isolatet ble påvist fra pasient med påvist *K. pneumoniae* ST252-NDM-5. Plasmid-mediert kolistinresistensen (*mcr* 9.1) ble også påvist i begge species (se nedenfor). Dette indikerer sannsynlig plasmidoverføring i samme pasient.

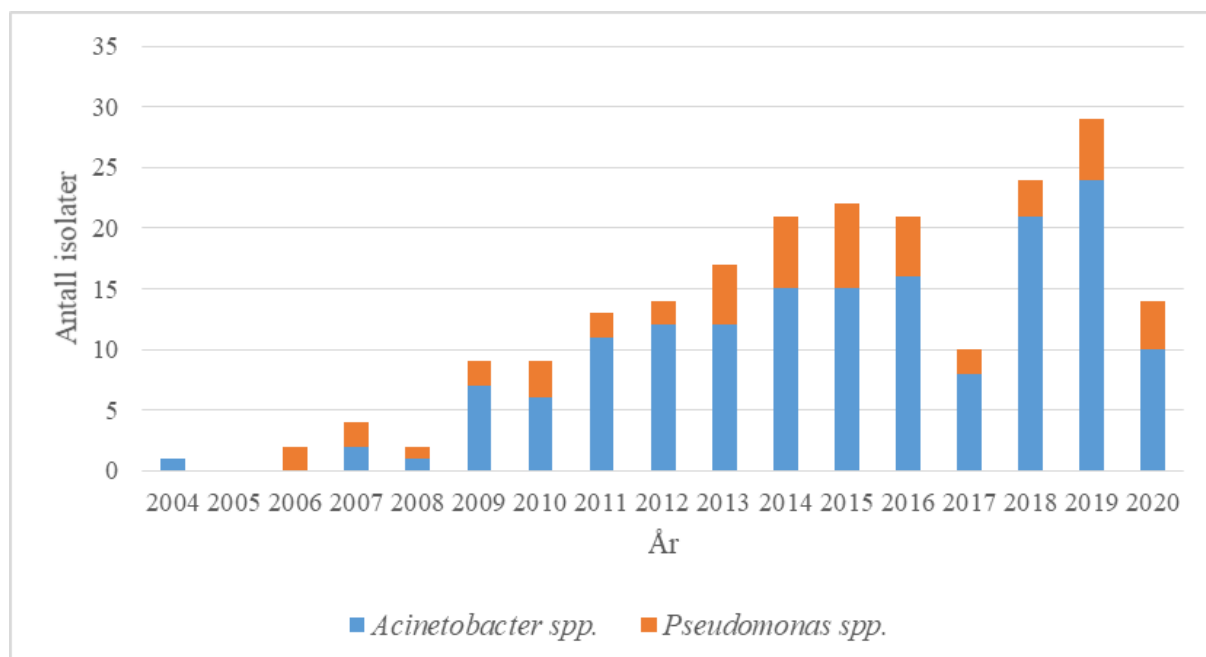
**Tabell 5. ST-karbapenemasevariant kombinasjoner påvist blant *Enterobacter* sp., *Kluyvera* sp. og *P. mirabilis* i 2020**

Species	ST-karbapenemasevariant kombinasjon
<i>Enterobacter</i> sp. (n=2)	ST93-NDM-5 (n=1); ST-ukjent-IMI-1 (n=1)
<i>Kluyvera</i> sp. (n=1) <sup>1</sup>	KPC-2
<i>P. mirabilis</i> (n=1) <sup>1</sup>	NDM-1

<sup>1</sup> MLST skjema ikke definert

### *Pseudomonas aeruginosa*

Fire tilfeller av karbapenemaseproduserende *P. aeruginosa* ble påvist i 2020 sammenlignet med fem i 2019 (Figur 13). Alle fire var koblet til import og påvist i klinisk prøvemateriale. Fire forskjellige ST-karbapenemasevariant kombinasjoner ble funnet (ST111-NDM-1, ST348-IMP-8, ST773-NDM-1 og ST941-VIM-2).



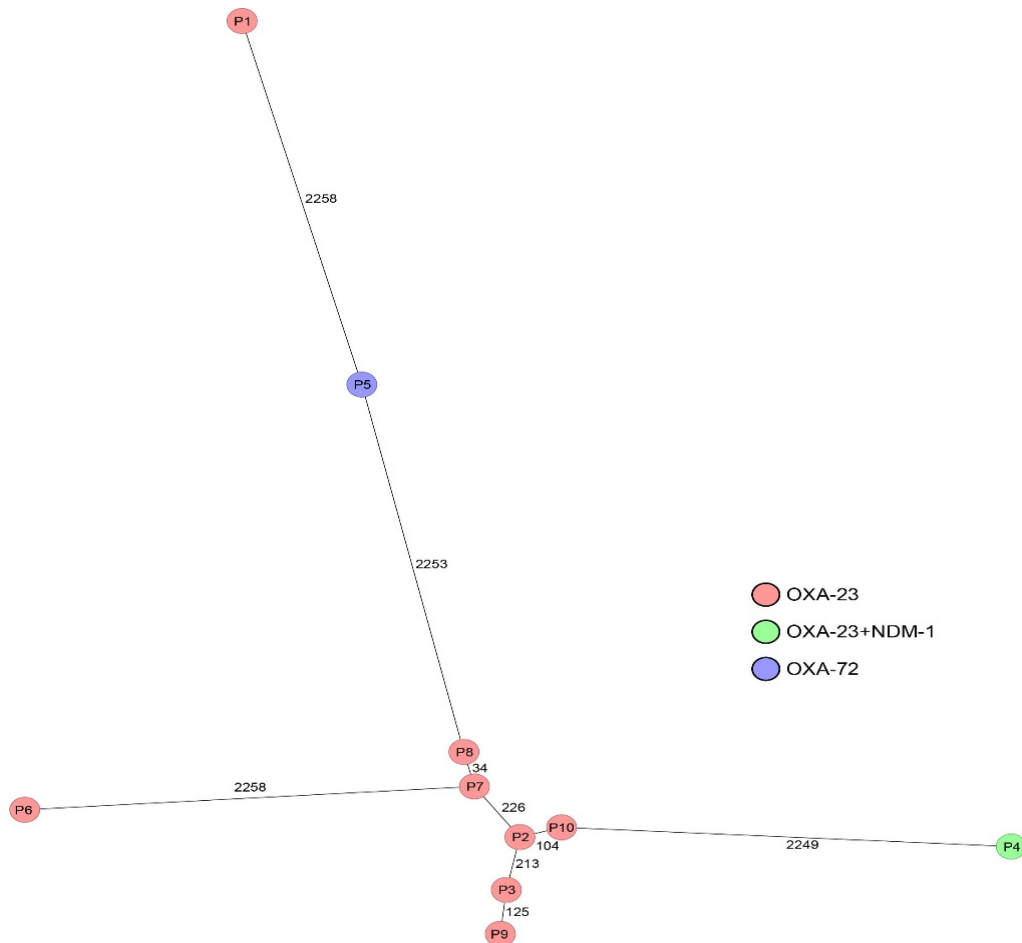
**Figur 13. Antall karbapenemaseproduserende *Pseudomonas* spp. og *Acinetobacter* spp. påvist i Norge 2004-2020.**

### *Acinetobacter*

Det ble i 2020 påvist 10 tilfeller med karbapenemaseproduserende *Acinetobacter* sp. i Norge mot 23 i 2019 (Figur 13). Alle isolatene tilhørte *A. baumannii*. Seks av isolatene tilhørte den dominerende globale klonen, ST2 (33) med OXA-23. OXA-23 ble også identifisert i henholdsvis ett ST1 isolat sammen med

NDM-1, ett ST16 isolat og ett isolat med ukjent ST. OXA-72 (OXA-24/40 variant) ble påvist i ett ST1122 isolat.

Isolatene ble tilsendt fra syv forskjellige laboratorier og importmistanke var oppgitt for ni av ti isolater. Helgenomanalyse viste at ingen av isolatene var nært beslektede ( $\leq 9$  SNP forskjeller) (Figur 14). Det foreligger derfor ingen mistanke om innenlandssmitte av karbapenemaseproduserende *A. baumannii* basert på genetiske slektskapsanalyser og epidemiologiske data.



**Figur 14. Minimum spanning nettverk bygd fra kjernegenom allel profilen på de norske karbapenemaseproduserende *A. baumannii* fra 2020 med bruk av SeqSphere software og *A. baumannii* ACICU som referansestamme. Isolatene er fargekodet etter karbapenemasevariant.**

**Konklusjon:** Forekomsten av karbapenemaseproduserende Gram-negative bakterier har gått ned i 2020 sammenlignet med tidligere år. Karbapenemaseproduserende isolater i Norge er hovedsakelig koblet til import. Nedgangen er derfor sannsynligvis en konsekvens av Covid-19 pandemien med påfølgende reisebegrensninger og smitteverntiltak. Nedgang i andre meldepliktige infeksjonssykdommer har også blitt observert (34). Helgenomsekvensering viser en stor diversitet av kloner og karbapenemasegener, inkludert representanter av globalt utbredte kloner assosiert til spesifikke karbapenemase gener som *E. coli* ST38-OXA-244, *P. aeruginosa* ST111-NDM-1 og *A. baumannii* ST2-OXA-23. Dette viser at Norge tar del i den globale spredningen av antibiotikaresistens. Med unntak av utbruddet med OXA-244 produserende *E. coli* ST38 viser slektskapsanalyser kun enkelttilfeller av sannsynlig klonal spredning av karbapenemaseproduserende *Enterobacterales* innad i Norge. 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 (35) indikert som ett reservemiddel og hvor testing bør utføres ved resistens mot klinisk relevante første- og andrehåndsmidler. Videre er buljongfortynning eneste anbefalte metode for resistensbestemmelse (36). Spørreundersøkelse i K-res sitt faglige nettverk i 2020 viste at syv av 20 laboratorier rapporterer at de undersøker kolistinfølsomhet hos Gram-negative stavbakterier hvorav fem laboratorier har etablert buljongfortynning. Følsomhet for colistin inngår heller ikke i NORM-programmet. Overvåkning av overførbar kolistinresistens er derfor ufullstendig og funn av overførbar kolistinresistens vil være koblet til selekterte 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 2020, ble det påvist et overførbart kolistinresistensgen (*mcr-9.1*) hos ett *Enterobacter* sp. isolat ST93 og ett *K. pneumoniae* ST252 isolat fra samme pasient. Begge isolatene var også positive for karbapenemasevarianten NDM-5. Begge isolatene var følsomme for kolistin (MIC = 1 mg/L). Det er kjent at noen *mcr* varianter, inkludert *mcr 9.1* ikke fører til klinisk kolistinresistens (37).

**Konklusjon:** Vi påviser kun sporadiske tilfeller av overførbar kolistinresistens i Norge. Men overvåkingen er ufullstendig og kun koblet til referanseundersøkelse av selekterte multiresistente stammer.

## Referanser

1. European Centre for Disease Prevention and Control. Point Prevalence Survey of Healthcare-Associated Infections and Antimicrobial Use in European Acute Care Hospitals 2011-2012. 2013. ISBN 978-92-9193-485-0. doi 10.2900/86011.
2. NORM/NORM-VET 2019. Usage of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in Norway. Tromsø/Oslo. 2020. ISSN: 1502-2307 (print)/1890-9965 (electronic).
3. 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.
4. Courvalin P. Vancomycin resistance in Gram-positive cocci. Clin Infect Dis. 2006;42 Suppl 1:S25-34.
5. 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, 6<sup>th</sup> Edition. Wolters Kluwer. 2015. ISBN-13: 978-1-4511-7675-9.
6. European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2018. Stockholm: ECDC. 2019. doi: 10.2900/22212.
7. 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.
8. 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>.
9. 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>.
10. Willems R, Top J, van Schaik W, Leavis H, Bonten M, Sirén J, Hange WP, Corander J. Restricted gene flow among hospital subpopulations of *Enterococcus faecium*. mBio. 2012;3:e00151-12. doi: 10.1128/mBio.00151-12.
11. Werner G, Fleige C, Fessler AT, Timke M, Kostrzewa M, Zischka M, Peters T, Kaspar H, Schwarz S. Improved identification including MALDI-TOF mass spectrometry analysis of group D streptococci from bovine mastitis and subsequent molecular characterization of corresponding *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolates. Vet Microbiol. 2012;160:162-9. doi: 10.1016/j.vetmic.2012.05.019.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. 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.
16. Brenciani A, Fioriti S, Morroni G, Cucco L, Morelli A, Pezzotti G, Panicià 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 *poxA*. J Antimicrob Chemother. 2019;74:817-8. doi: 10.1093/jac/dky505.
17. 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.
18. Cassini A, Högberg LD, Plachouras D, Quattrocchi A, Hoxha A, Simonsen GS, Colomb-Cotinat M, Kretzschmar ME, Devleeschauwer 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.
19. European Centre for Disease Prevention and Control. OXA-244-producing *Escherichia coli* in the European Union/European Economic Area and the UK since 2013 – 18 February 2020. ECDC: Stockholm. 2020. <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/RRA-E-coli-OXA-244-producing-E-coli-EU-EEA-UK-since-2013.pdf>
20. Kremer K, Kramer R, Neumann B, Haller S, Pfenningwerth N, Werner G, Gatrmann S, Schrotten H, Eckmanns T, Hans JB. Rapid spread of OXA-244-producing *Escherichia coli* ST38 in Germany: insights from an integrated molecular surveillance approach; 2017 to January 2020. Euro Surveill 2020;25:2000923. Doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.25.2000923.

21. Hammerum AM, Porsbo LJ, Hansen F, Roer L, Kaya H, Henius A, Møller KL, Justesen US, Søes L, Røder BL, Thomsen PK, Wang M, Søndergaard TS, Holzknacht BJ, Østergaard C, Kjerulf A, Kristensen B, Hasman H. Surveillance of OXA-244-producing *Escherichia coli* and epidemiologic investigation of cases, Denmark, January 2016 to August 2019. *Euro Surveill* 2020;25:1900742. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.18.19000742.
22. Falgenhauer L, Nordmann P, Imirzalioglu C, Yao Y, Falgenhauer J, Hauri AM, Hainmüller P, Chakraborty T. Cross-border emergence of clonal lineages of ST38 *Escherichia coli* producing the OXA-48-like carbapenemase OXA-244 in Germany and Switzerland. *Int J Antimicrob Agents*. 2020;56:106157. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.106157.
23. Pitout JDD, Peirano G, Kock MM, Strydom KA, Matsumura Y. The global ascendancy of OXA-48 type carbapenemases. *Clin Microbiol Rev*. 2019;33:e00102-19. doi: 10.1128/CMR.00102-19.
24. Potron A, Poirel L, Dortet L, Nordmann P. Characterisation of OXA-244, a chromosomally-encoded OXA-48-like  $\beta$ -lactamase from *Escherichia coli*. *Int J Antimicrob Agents*. 2016;47:102-3. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2015.10.015.
25. Emeraud C, Biez L, Girlich D, Jousset AB, Naas T, Bonnin RA, Dortet L. Screening of OXA-244 producers, a difficult-to-detect and emerging OXA-48 variant? *J Antimicrob Chemother*. 2020;75:2120-2123. doi: 10.1093/jac/dkaa155.
26. Nordic Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters NordicAST version 11.0, valid from 2021-01-22 [Based on EUCAST Version 11.0].
27. Masseron A, Poirel L, Falgenhauer L, Imirzalioglu C, Kessler J, Chakraborty T, Nordmann P. Ongoing dissemination of OXA-244 carbapenemase-producing *Escherichia coli* in Switzerland and their detection. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2020;97:115059. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2020.115059.
28. Nasjonal kompetansetjeneste for påvisning av antibiotikaresistens. Viktig informasjon angående påvisning av OXA-244 karbapenemaseproduserende *E. coli*. <https://unn.no/fag-og-forskning/k-res/viktig-informasjon-angaende-pavisning-av-oxa-244-karbapenemase-produserende-e-coli>
29. 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.
30. European Centre for Disease Prevention and Control. Carbapenemase-producing (OXA-48) *Klebsiella pneumoniae* ST392 in travellers previously hospitalised in Gran Canaria, Spain – 10 July 2018, Stockholm. 2018. <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/28-06-2018-RRA-Klebsiella-pneumoniae-Spain-Sweden-Finland-Norway.pdf>
31. 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.
32. 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.
33. 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.
34. Stefanoff P, Løvlie AL, Elstrøm P, Macdonald EA. Reporting of notifiable infectious diseases during the COVID-19 response. *Tidsskr Nr Laegeforen* 2020;140. doi: 10.4045/tidsskr.20.0334.
35. 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.%20-sentre%20og%20fagr%C3%A5d/AFA%20-%20Arbeidsgruppen%20for%20antibiotikasp%C3%B8rsm%C3%A5l/Resistenspaneler/19.02.21%20AFAs%20anbefalte%20resistenspaneler.pdf>
36. 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.
37. Tyson GH, Li C, Hsu C-H, Ayers S, Borenstein S, Mukherjee S, Tran T-T, McDermott PF, Zhao S. The *mcr-9* gene of *Salmonella* and *Escherichia coli* is not associated with colistin resistance in the United States. *Antimicrobial Agents Chemother*. 2020;64:e00573-20. doi: 10.1128/AAC.00573-20.