

Forekomst og molekylære genetiske analyser av bakterier med spesielle resistensmønstre i Norge 2022 – rapport fra nasjonalt referanselaboratorium

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

Kristin Hegstad¹, Ørjan Samuelsen¹, Anna Pöntinen¹, Torunn Pedersen¹,
Miriam Sare², Mari Molvik² og Arnfinn Sundsfjord¹

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

²Meldingssystem for smittsomme sykdommer (MSIS), Folkehelseinstituttet

 **NASJONAL KOMPETANSETJENESTE**
for påvisning av antibiotikaresistens



UNIVERSITETSSYKEHUSET NORD-NORGE
UNIVERSITY HOSPITAL OF NORTH NORWAY



INNHALDSFORTEGNELSE

SAMMENDRAG	2
SUMMARY	3
BAKGRUNN	4
VANKOMYCINRESISTENTE ENTEROKOKKER.....	4
LINEZOLIDRESISTENTE ENTEROKOKKER.....	8
KARBAPENEMASEPRODUSERENDE GRAM-NEGATIVE BAKTERIER	12
<i>Enterobacterales</i>	12
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	18
<i>Acinetobacter</i>	20
OVERFØRBAR KOLISTINRESISTENS HOS GRAM-NEGATIVE BAKTERIER.....	22
REFERANSER	23

Sammendrag

Det ble rapportert 74 tilfeller med **vankomycinresistente enterokokker** (VRE) i Norge i 2022. Dette er en økning på 118 % fra 2021. K-res har helgenomdata for 57 av isolatene hvorav majoriteten kom fra screeningsprøver ($n=46$). VRE var hovedsakelig knyttet til sporadiske isolater og mindre klynger i Helse Vest og Helse Sør-Øst. Majoriteten av isolatene var *Enterococcus faecium* ($n=49$) med *vanA* ($n=35$) eller *vanB* ($n=11$). Det ble registrert tre mindre utbrudd med to *E. faecium* (*vanD* ST80, *vanA* ST17 og *vanB* ST80). Alle VRE *E. faecium* tilhører utbredte sykehusadapterte kloner som har vært rapportert i mange land.

Antallet rapporterte tilfeller med **linezolidresistente enterokokker** (LRE) i Norge i 2022 er fortsatt lavt ($n=38$), selv om det var en 138 % økning i antall tilfeller fra 2021. De fleste LRE isolatene fra 2022 var fra infeksjoner ($n=28$). *E. faecalis* med *optrA* ($n=19$) og *E. faecium* med mutasjonsbasert resistens ($n=15$) var de vanligste variantene av LRE. Slektskapsanalyser bekrefter at det i 2022 ble registrert to utbrudd med henholdsvis to *optrA E. faecalis* og fire *E. faecium* isolater med mutasjonsbasert resistens. Økningen av LRE er muligens knyttet til at flere kliniske enterokokkisolater blir rutinemessig testet for linezolidresistens etter nye anbefalinger fra AFA og skyldes i liten grad innenlands smittespredning.

Forekomsten av **karbapenemaseproduserende Gram-negative** økte markant i 2022 sammenlignet med 2021 og tidligere år. Antallet tilfeller av **karbapenemaseproduserende Enterobacterales** økte med >150 % fra 2021 ($n=60$) til 2022 ($n=152$) i 2022. Antallet tilfeller av **karbapenemaseproduserende Pseudomonas spp.** økte fra ett i 2021 til 18 i 2022 og antallet tilfeller av **karbapenemaseproduserende Acinetobacter spp.** økte fra åtte i 2021 til 30 i 2022. Basert på data fra rekvisisjon og meldesystemet for smittsomme sykdommer (MSIS) har andelen tilfeller assosiert med import økt og i 2022 var en stor andel av tilfellene assosiert med mistanke om import fra Ukraina (*Enterobacterales* 24 %, *Pseudomonas* spp. 72 % og *Acinetobacter* spp. 50 %). Genetiske slektskapsanalyser viste stor grad av genetisk diversitet, men dominans av kjente globalt utbredte kloner assosiert med spesifikke karbapenemasegener. Klynger av genetisk nært beslektede isolater ble påvist både blant *Enterobacterales*, *Pseudomonas aeruginosa* og *Acinetobacter baumannii*. I hovedsak bestod disse klyngene av isolater assosiert med mistanke om import spesielt fra Ukraina. I flere av disse klyngene ble isolatene påvist ved forskjellige laboratorier som indikerer at smittespredning har skjedd før ankomst til Norge. To tilfeller av sekundærsmitte i Norge av henholdsvis *Klebsiella pneumoniae* ST147 med NDM-1 og en ny *K. pneumoniae* ST med NDM-1 assosiert til import fra henholdsvis Ukraina og Thailand ble bekreftet. I tillegg ble det påvist nært slektskap mellom henholdsvis to *K. pneumoniae* ST395-NDM-1+OXA-48 og to *E. coli* ST46-NDM-5 hvor det var mistanke om sekundærsmitte etter import fra Ukraina. Det ble også påvist mindre klynger av isolater inkludert *Escherichia coli* ST141-OXA-181 ($n=2$) og *A. baumannii* ST417-OXA-420 ($n=2$) uten kjent mistanke om import. Videre ble det også påvist to *K. pneumoniae* ST22-OXA-181 isolater koblet til et kjent utbrudd i Helse Sør-Øst. Den høye andelen (åtte av ni tilfeller) av *E. coli* ST38-OXA-244 uten mistanke eller manglende informasjon om importmistanke undersøkes nærmere.

Fire tilfeller av **overførbar kolistinresistens** (*mcr*-gener) ble påvist i 2022. I alle tilfellene ble *mcr*-varianten *mcr-9.1* påvist hos kolistinfølsomme isolater. Tre av isolatene var karbapenemaseproduserende.

Manglende mulighet for kontinuerlig tilgang til kobling mellom MSIS-data og resultater fra nasjonalt referanselaboratorium gir en ufullstendig oversikt over hvilke andeler av meldepliktige multiresistente bakterier som er assosiert til import eller kan være assosiert til innenlandssmitte.

Summary

In 2022, 74 number of cases with **vancomycin resistant enterococci** (VRE) were reported in Norway. This represents a significant increase (118%) from the previous year. In this report, we present genomic data for 57 isolates of which the majority were from screening samples ($n=46$). The VRE isolates are mainly sporadic isolates, but small clusters were identified in the South-Eastern and Western health regions. Most of the isolates were *Enterococcus faecium* ($n=49$) with *vanA* ($n=35$) or *vanB* ($n=11$). Three small outbreaks with *E. faecium* were registered (*vanD* ST80, *vanA* ST17 and *vanB* ST80). All VRE *E. faecium* belonged to widespread hospital adapted clones that has been reported worldwide.

The number of reported **linezolid resistant enterococci** (LRE) in Norway was still low in 2022 ($n=38$), although the number of isolates increased by 138% compared to 2021. The majority of the LRE are clinical isolates ($n=28$). *Enterococcus faecalis* with transferable resistance (*optrA* $n=19$) and *E. faecium* with 23S rRNA mutations ($n=15$) were the dominant LRE variants. Phylogenetic analyses confirmed two small outbreaks of *optrA E. faecalis* ($n=2$) and *E. faecium* ($n=4$) resistant to linezolid due to a mutation (G2576T) in the 23S rRNA gene. The increase in LRE is possibly due to more clinical isolates of enterococci being routinely tested for linezolid resistance due to new national recommendations.

The number of cases of **carbapenemase-producing Gram-negative bacteria** increased markedly in 2022 compared to 2021 and previous years. The number of **carbapenemase-producing Enterobacterales** cases increased by >150% from 2021 ($n=60$) to 2022 ($n=152$). Similarly, the number of **carbapenemase-producing Pseudomonas spp.** (one in 2021 vs. 18 in 2022) and **Acinetobacter spp.** (eight in 2021 vs. 30 in 2022) cases also increased. Based on data from the submitted requisition and the Norwegian Surveillance System for Communicable Diseases (MSIS), the number of cases associated with import increased in 2022 and a large proportion of cases was associated with suspicion of import from Ukraine (*Enterobacterales* 24%, *Pseudomonas* spp. 72% and *Acinetobacter* spp. 50 %). Whole genome sequencing and phylogenetic analysis showed in general a high degree of genetic diversity, but dominance of known globally disseminated high-risk clones associated to specific carbapenemase genes. Clusters of genetically related isolates were observed among *Enterobacterales*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolates. These clusters were mainly composed of isolates associated with import and in particular from Ukraine. In several of the clusters the isolates were identified at different laboratories indicating that the transmission has occurred outside Norway. However, two secondary transmissions of *Klebsiella pneumoniae* ST147 with NDM-1 and *K. pneumoniae* of a novel ST with NDM-1, respectively, were confirmed after identification of cases associated with import from Ukraine and Thailand, respectively. In addition, secondary transmission of *K. pneumoniae* ST395-NDM-1+OXA-48 and *E. coli* ST46-NDM-5 associated with import from Ukraine was suspected in one case. Moreover, small clusters of isolates including *Escherichia coli* ST141-OXA-181 ($n=2$) and *A. baumannii* ST417-OXA-420 ($n=2$) not clearly linked to import was identified. In addition, two *K. pneumoniae* ST22-OXA-181 isolates linked to a known outbreak was identified. The large proportion of *E. coli* ST38-OXA-244 cases (eight out of nine) without or with no clear association to import warrants further investigations.

Four cases of **plasmid-mediated colistin resistance** were identified in 2022. In all cases *mcr-9.1* was identified in colistin susceptible isolates. Three of the isolates were carbapenemase-producers.

The lack of established routines and protocol for continuous analysis of combined data from the communicable disease registry and reference laboratory results in an incomplete overview of the proportion of multi-drug resistant bacteria associated with import or possible internal spread within Norway.

Bakgrunn

Bærertilstand eller infeksjoner med VRE, LRE, karbapenemaseproduserende Gram-negative bakterier (*Enterobacterales*, *Pseudomonas* og *Acinetobacter*) og Gram-negative bakterier med overførbart kolistinresistens er meldingspliktige 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 overførbart kolistinresistens i Norge for 2022.

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 har en særlig evne til også å erverve resistens mot antibiotika 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 assosierte 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).

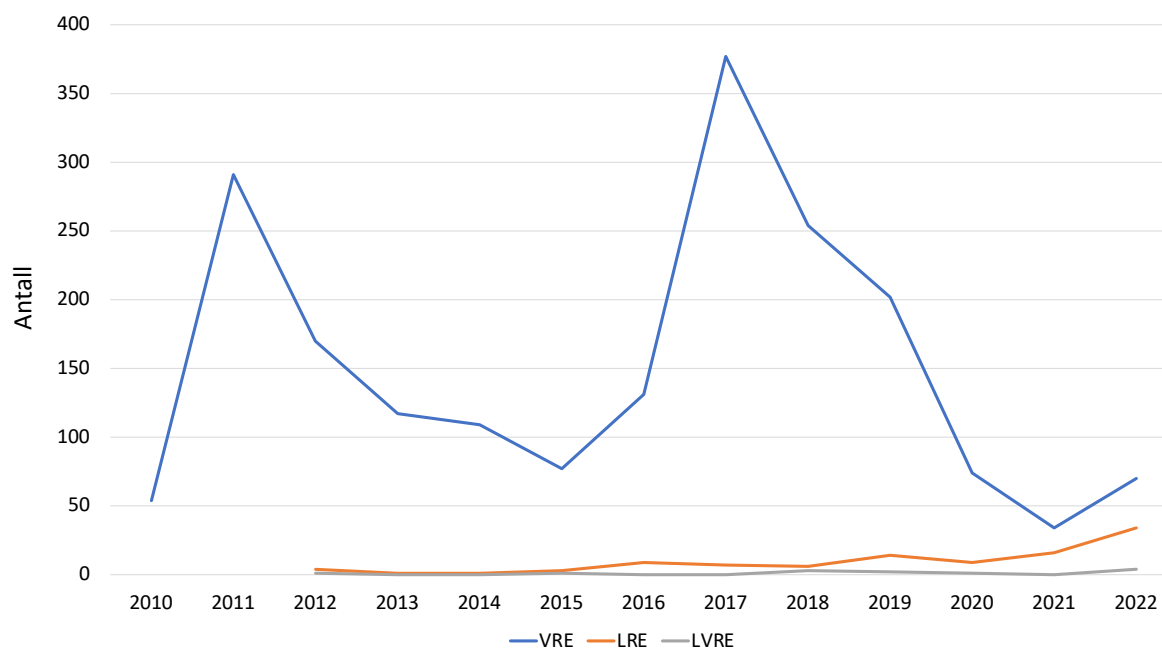
VRE er meldepliktige til MSIS. Ved K-res bekrefter vi resistensfenotypen og avdekker eventuell diskrepans mellom fenotyp og genotype med referansemetoden (mikrobuljongfortynning) og genetisk karakterisering med PCR og helgenomsekvensering (HGS). HGS gjøres for å avklare resistensmekanismer og overvåke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

I Europa har man sett en bekymringsverdig økning i vankomycinresistente *E. faecium* fra 2016 til 2020 (7). I Norge har insidensen av VRE variert noe de siste 10 årene. I 2022 ble det registrert 74 tilfeller av VRE i Norge som er en økning på 40 isolater (118%) siden 2021. Fire av VRE fra 2022 var også linezolidresistente (LVRE) (**Figur 1**). K-res har mottatt 57 VRE (77%) fra 2022. Dette er derfor ikke en fullstendig oversikt over VRE-situasjonen i Norge, men vi kan se noen trender. Se **Tabell 1** for oversikt over fordeling av VRE på helseregioner og antall K-res har HGS data på.

Tabell 1. Antall VRE isolater (n=57) i Norge for 2022 samt HGS data analysert på K-res fordelt på helseregioner

Helse region	Antall VRE	Antall VRE med HGS
Helse Sør-Øst	41	29
Helse Vest	25	20
Helse Midt	5	5
Helse Nord	3	3

¹ 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

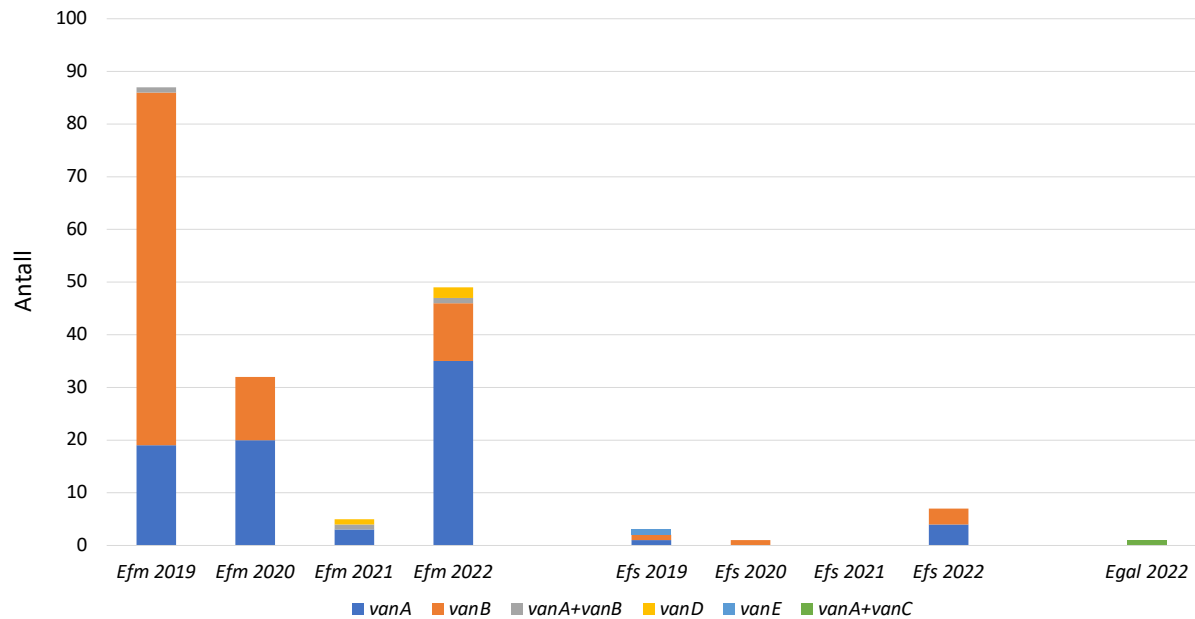


Figur 1. Antall vankomycinresistente (VRE), linezolidresistente (LRE) og både vankomycin- og linezolidresistente (LVRE) enterokokker i Norge 2010-2022. Kombinerte data fra MSIS.no og K-res.

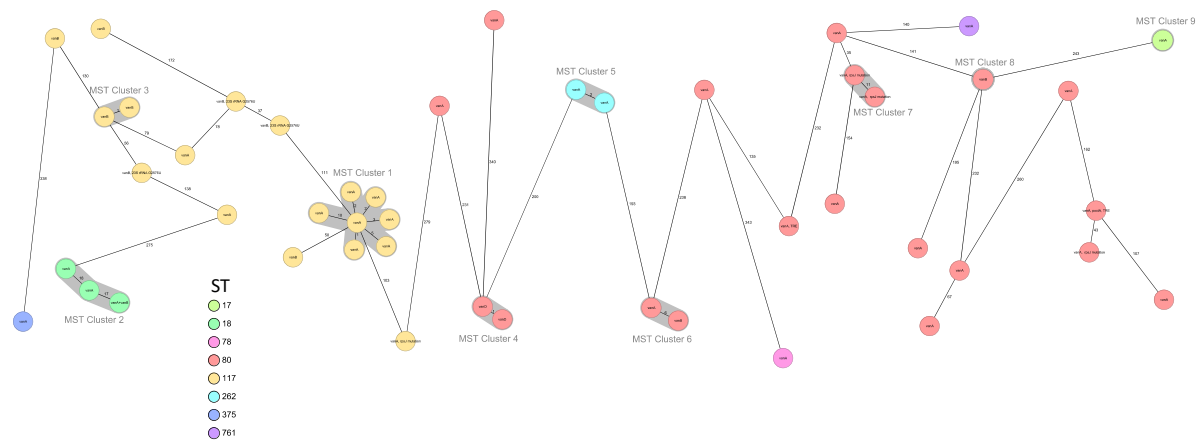
Blant de 57 VRE tilfellene identifiserte vi *vanA* (n=35), 11 *vanB* (n=11), og to *vanD* (n=2), *E. faecium*, mens et *E. faecium* isolat inneholdt både *vanA* og *vanB*. Vi påviste også fire *vanA* og tre *vanB* *E. faecalis* samt ett *E. gallinarum* isolat med både *vanA* og *vanC* (**Figur 2**). VRE i Norge har tidligere har vært dominert av *vanB* *E. faecium* på grunn av enkelte større utbrudd (8), mens vi i 2022 hadde flest *vanA* *E. faecium* (61% av total) deretter *vanB* *E. faecium* (19%). Globalt domineres VRE av *E. faecium* fremfor *E. faecalis* (9,10), og *vanA* heller enn *vanB* (5).

Vi registrerte 8 ulike sekvenstyper (ST) av *E. faecium* i 2022 (**Figur 3**) som alle tilhører kjente sykehusadapterte kloner som man finner i mange land, samt 4 ulike ST av *E. faecalis* (**Figur 4**) hvorav ST6 ofte er knyttet til kliniske isolater og sykehus (11).

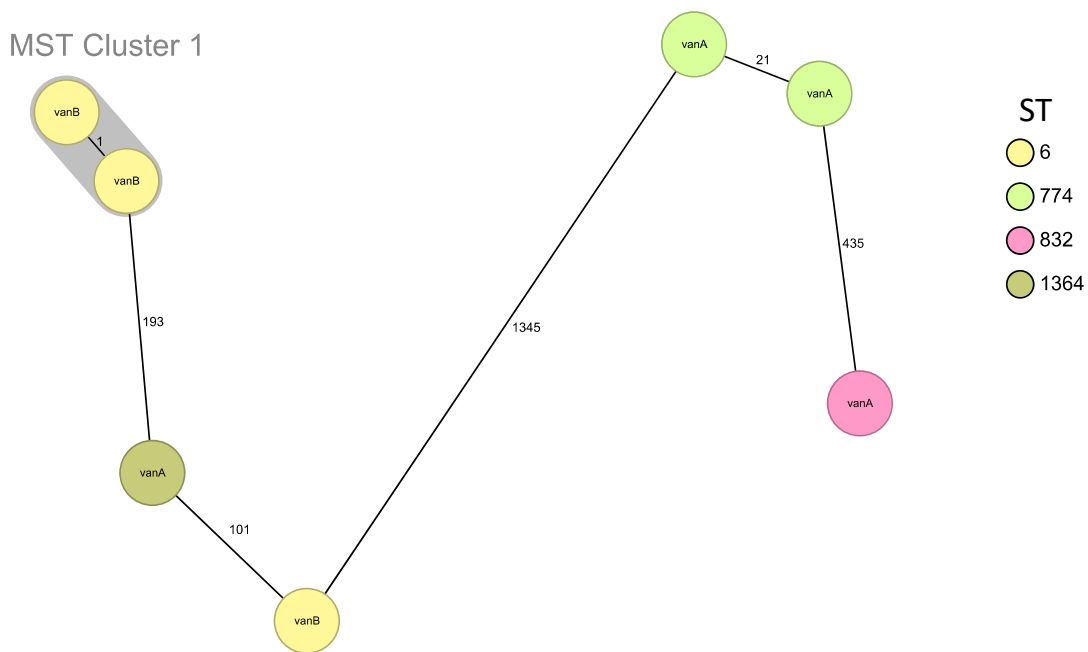
Det ble identifisert ni mindre klynger med to til sju isolater av ST17, ST18, ST80, ST117 og ST262 *E. faecium* (**Figur 3**) og en med to ST6 isolater av *E. faecalis* (**Figur 4**). Tre av de minste klyngene inneholdt to *E. faecium* med epidemiologisk forbindelse (*vanD* ST80 cluster 4, *vanA* ST17 cluster 9 og *vanB* ST80 cluster 8 i **Figur 3**) og ble derfor regnet som utbrudd. Cluster 4 representerer det første utbruddet av *vanD* resistert i Norge. I den største klyngen av *E. faecium* (n=7, ST117 cluster 1 i **Figur 3**) var alle isolatene assosiert med import blant annet fra Ukraina til seks ulike sykehus i Helse Sør-Øst og Helse Vest, mens seks av de andre klyngene inneholdt isolater som ikke er nært forbundet i tid og/eller sted. Disse ble derfor ikke regnet som utbrudd. Kjente sykehuskloner av *E. faecium* kan typisk overleve i sykehusmiljøet over lengre tid (12) og flytte med pasientene mellom sykehus noe som gjør det vanskelig å avgjøre hvilke isolater som tilhører et utbrudd. Studier fra Folkehelselaboratoriet i Melbourne, Australia (13) støtter bruk av et tre måneders vindu ved genomikk utbruddsanalyser av *E. faecium* noe vi bruker på K-res.



Figur 2. Fordeling av species og genotype i norske VRE isolater som K-res har helgenomsekvensdata på for 2019-2022. Inkluderer også linezolidresistente VRE. *Efm* = *E. faecium*, *Efs* = *E. faecalis*, *Egal* = *E. gallinarum*.



Figur 3. Minimum spanning nettverk bygd fra kjernegenom allel profilen på 49 norske VRE *E. faecium* isolater fra 2022 med bruk av SeqSphere programvare og Aus0004 referansestamme. Isolatene er fargekodet etter sekvenstype (ST). VRE, LRE og tigesyklinresistens er angitt i sirkel. Isolater med null allelforskjeller havner i samme sirkel. Antall allelforskjeller mellom isolatene er angitt på linjene mellom sirklene. Ni ulike klynger (≤ 20 allelforskjeller) er uthevet med grå markering.



Figur 4. Minimum spanning nettverk bygd fra kjernegenom allel profilen på 7 norske VRE *E. faecalis* isolater fra 2022 med bruk av SeqSphere programvare og OG1RF referansestamme. Isolatene er fargekodet etter ST, VRE genotype er angitt i sirkel, og antall allelforskjeller mellom isolatene er angitt på linjene mellom sirklene. En klynge (≤ 7 allelforskjeller) er uthevet med grå markering.

Konklusjon: Det ble rapportert 74 tilfeller med vankomycinresistente enterokokker (VRE) i Norge i 2022. K-res presenterer her data for 57 av disse hvorav majoriteten kom fra screeningsprøver ($n=46$). VRE var hovedsakelig knyttet til sporadiske isolater og mindre klynger i Helse Vest og Helse Sør-Øst. Majoriteten av isolatene var *E. faecium* med *vanA* eller *vanB*. Det ble registrert tre mindre utbrudd med to *E. faecium* isolater i hvert utbrudd. Ett av disse er det første *vanD* utbruddet registrert i Norge. Alle VRE *E. faecium* tilhører globale sykehusadapterte kloner.

Linezolidresistente enterokokker

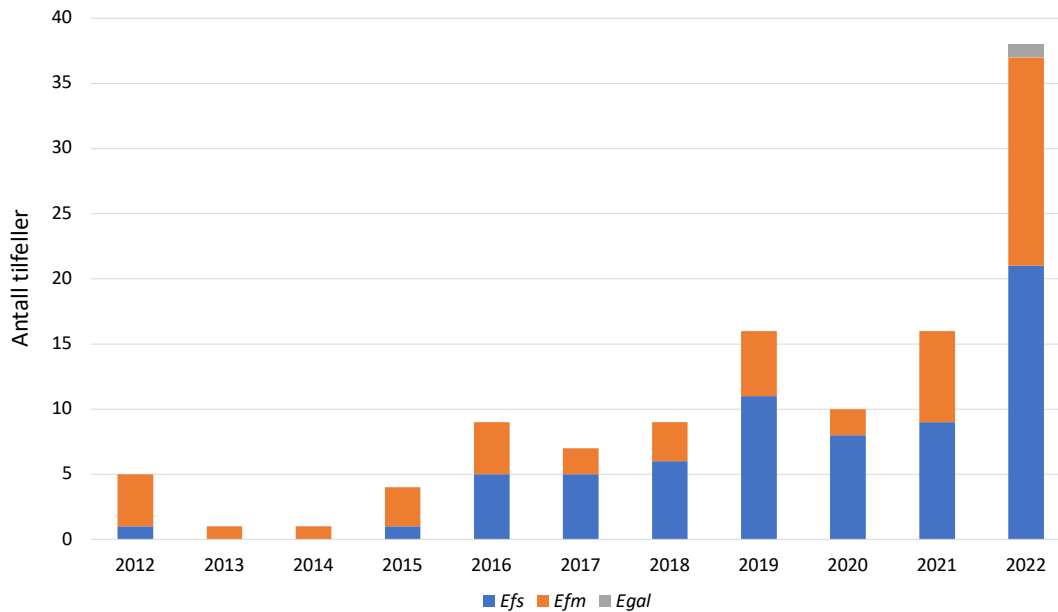
Linezolid anses for å være siste skanse i behandlingen av infeksjoner med multiresistente enterokokker, inkludert VRE. Forekomsten av linezolidresistens blant kliniske enterokokker (LRE) er fortsatt lav (<1 %) på verdensbasis (14), men økende i mange land (15,16).

Linezolid binder seg til ribosomet og hemmer bakteriens proteinsyntese. Både mutasjonsbaserte endringer i ribosomalt RNA og ribosomale proteiner samt genprodukter som kjemisk modifierer (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 (15,17,18). *Cfp* 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 (15,19). Mutasjonsbasert resistens opptrer oftest etter behandling med oxazolidinoner (20). 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 (21,22).

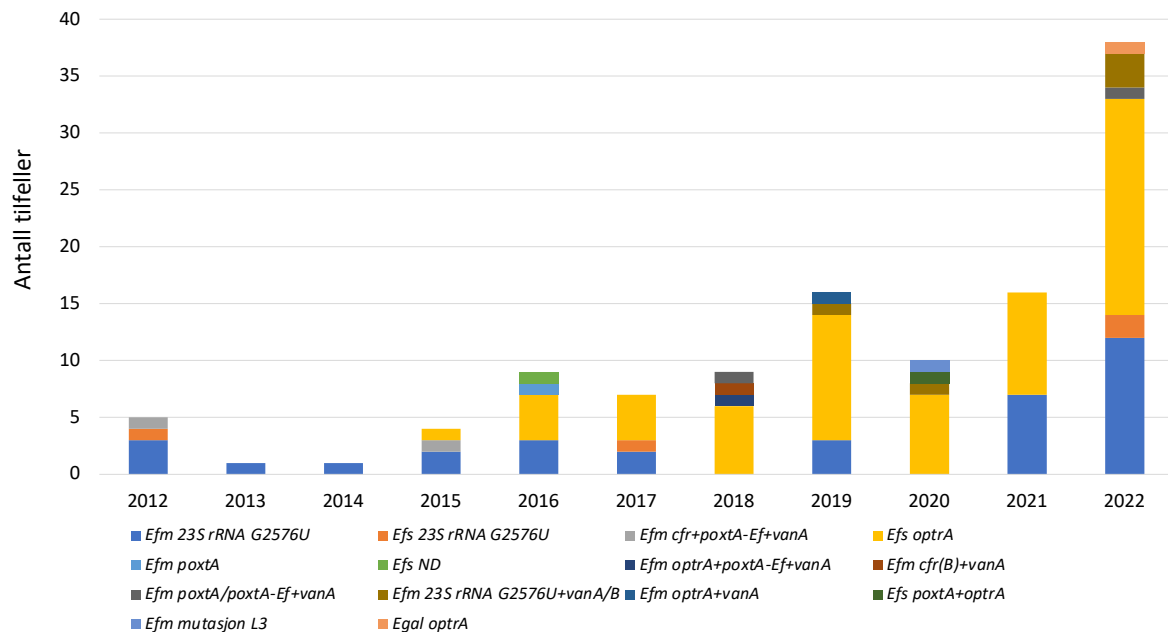
LRE er meldepliktige til MSIS. Det nasjonale referanselaboratoriet for LRE (K-res) bekrefter resistensfenotypen med referansemetoden (mikrobuljongfortynning) og utfører genetisk karakterisering med PCR og helgenomsekvensering for å finne resistensmekanismer og overvåke slektskap mellom isolatene. AFA tilrår rutinemessig følsomhetstesting for linezolid av kliniske enterokokkisolater i Norge i sine anbefalte resistenspaneler. En kartlegging gjennomført av K-res i 2020 viser at de fleste laboratoriene følger disse anbefalingene. I NORM 2021-rapporten ble alle invasive enterokokkisolater ($n=1392$) kategorisert som S for linezolid (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 2022 ble det påvist 38 tilfeller av LRE i Norge. Dette er 22 flere tilfeller (138 % økning) sammenlignet med 2021 (**Figur 5**). 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 6**; $n=60$).

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 (21). I 2022 ble det påvist 16 linezolidresistente *E. faecium* hvorav 15 hadde mutasjonsbasert resistensmekanisme og en *poxA*. I *E. faecalis* isolatene ($n=21$) identifiserte vi *optrA* ($n=19$) og mutasjonsbasert resistens ($n=2$) (**Figur 6**). LRE tilfellene i 2022 var dominert av kliniske isolater ($n=28$), hvorav 17 hadde *optrA*. Sju av isolatene var bærerisolat dominert av *E. faecium* ($n=5$) med mutasjonsbasert resistens. Ni av isolatene var assosiert med kjent import, mens det foreligger manglende opplysninger om eventuell import for 20 isolater. Alle *E. faecium* isolatene ($n=16$) tilhørte kjente sykehusassosierte sekvenstyper (ST17, ST117 og ST80). *E. faecalis* isolatene ($n=21$) tilhørte 12 ulike ST hvorav ST179, ST16 og ST895 ble funnet i to eller flere isolater (**Tabell 2**).



Figur 5. Antall linezolidresistente *E. faecium* (*Efm*), *E. faecalis* (*Efs*) og *E. gallinarum* (*Egal*) i Norge 2012-2022. Oversikten inkluderer også LRE som er vankomycinresistente.

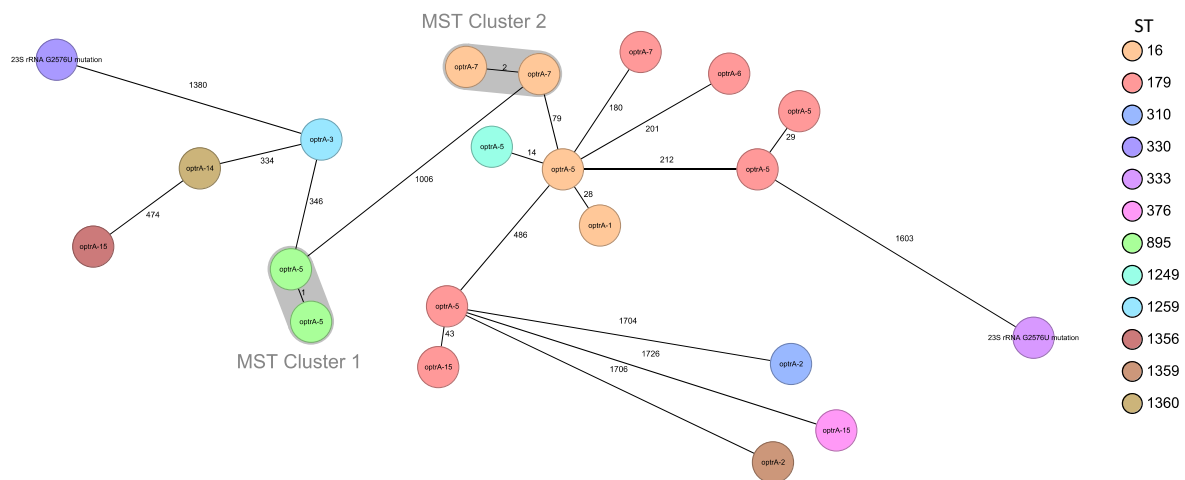


Figur 6. Antall LRE i forhold til resistensmekanismer per år. ND = ikke bestemt genotype fordi isolatet ikke ble sendt K-res eller arkivert ved primærlaboratoriet. *Efm* = *E. faecium*. *Efs* = *E. faecalis*.

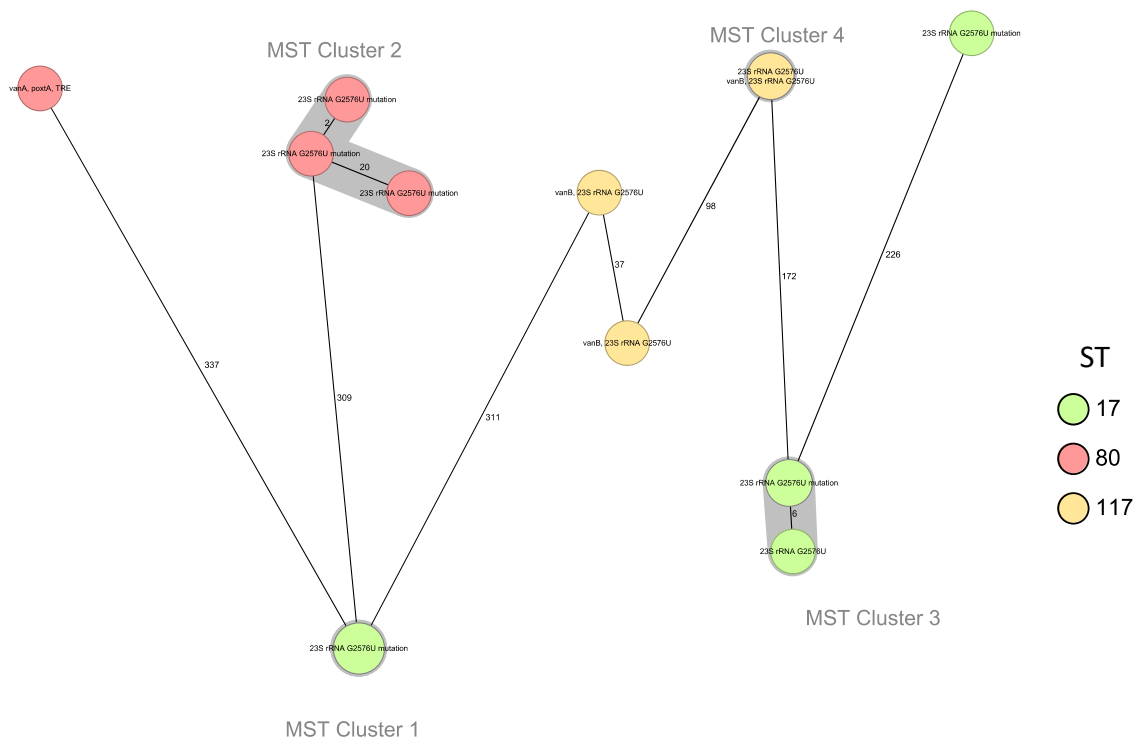
Tabell 2. Species, resistensmekanisme og sekvenstype blant LRE isolater i Norge 2022

Species	Resistensmekanisme	ST
<i>E. faecalis</i> (n=21)	<i>optrA</i> (n=19)	ST179 (n=6); ST16 (n=4); ST895 (n=2); ST310 (n=1); ST376 (n=1); ST1249 (n=1); ST1259 (n=1); ST1356 (n=1); ST1359 (n=1); ST1360 (n=1)
	23S rRNA G2576U mutasjon (n=2)	ST330 (n=1); ST333 (n=1)
<i>E. faecium</i> (n=16)	23S rRNA G2576U mutasjon (n=15)	ST17 (n=8); ST117 (n=4); ST80 (n=3)
	<i>poxtA</i> (n=1)	ST80 (n=1)
<i>E. gallinarum</i> (n=1)	<i>optrA</i> (n=1)	-

Etter at det førte LRE utbruddet ble registrert i Norge i 2012 (24) har det i 2022 vært flere tilfeller av mindre klynger/utbrudd med LRE. Helgenomanalyser viste at henholdsvis to ST16 og to ST895 *optrA* *E. faecalis* fra 2022 tilhørte samme klynger (**Figur 7**). Slektskapsanalysene viste også to ulike klynger av ST17 (n=4 og n=3), en med ST80 (n=3) og en med ST117 (n=2) av *E. faecium* med G2576U mutasjon i 23S rRNA V domenet (**Figur 8**). ST895 *optrA* *E. faecalis* ble regnet som utbrudd da begge isolatene kom fra samme sykehus med noen dager mellomrom og kun viste en allelforskjell i kjernegenomet (**Figur 7** klynge 1). Dette er første utbrudd registrert i Norge med *optrA*. For en av ST17 klyngene med 4 isolater fra to ulike sykehus (klynge 3 **Figur 8**) ble det også påvist epidemiologisk forbindelse. Denne ble derfor regnet som utbrudd. For alle de andre klyngene var ikke isolatene nært forbundet i tid og/eller sted. Disse ble derfor ikke regnet som utbrudd.



Figur 7. Minimum spanning nettverk bygd fra kjernegenom allel profilen på 21 norske LRE *E. faecalis* isolater fra 2022 med bruk av SeqSphere programvare og OG1RF referansestamme. Isolatene er fargekodet etter ST, LRE genotype er angitt i sirkel, og antall allelforskjeller mellom isolatene er angitt på linjene mellom sirklene. To klynger (≤ 7 allelforskjeller) er uthevet med grå markering.



Figur 8. Minimum spanning nettverk bygd fra kjernegenom allel profilen på 16 norske LRE *E. faecium* isolater fra 2022 med bruk av SeqSphere programvare og Aus0004 referansestamme. Isolatene er fargekodet etter ST. VRE, LRE og tigesyklinresistens er angitt i sirkel. Isolater med null allelforskjeller havner i samme sirkel. Antall allelforskjeller mellom isolatene er angitt på linjene mellom sirklene. Fire klynger med ≤ 20 SNP forskjeller er uthevet med grå markering.

Konklusjon: Antallet nye tilfeller med LRE er fortsatt lavt ($n=38$), selv om det var en 138 % økning i antall rapporterte tilfeller fra 2021 til 2022. De fleste LRE isolatene fra 2022 var fra infeksjoner ($n=28$). Majoriteten av LRE isolatene var *E. faecalis* med *optrA* ($n=19$) deretter *E. faecium* med mutasjonsbasert resistens ($n=15$). Slektskapsanalyser og epidemiologiske data viser at det var seks mindre klynger av LRE i 2022, og to av disse var utbrudd med henholdsvis to *optrA* *E. faecalis* og fire *E. faecium* med mutasjonsbasert resistens. Dette er første gang det har vært registrert utbrudd i Norge med *optrA*. Økningen av LRE kan muligens knyttes til at flere kliniske enterokokkisolater blir rutinemessig testet for linezolid på grunn av AFAs anbefaling og i liten grad til innenlands smittespredning.

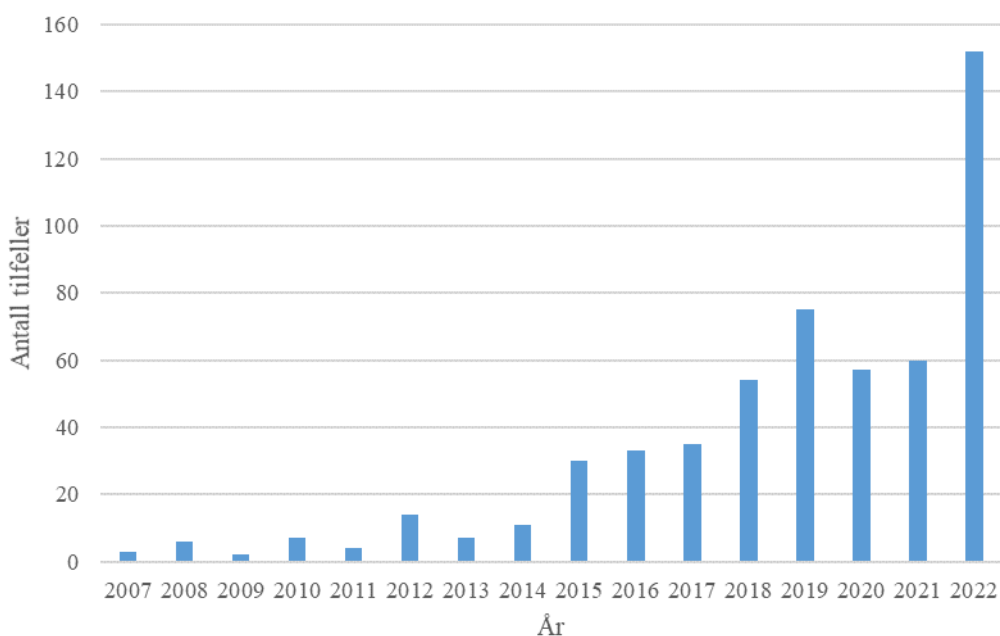
Karbapenemaseproduserende Gram-negative bakterier

Karbapenemresistens hos Gram-negative er en av de største bidragsyterne til den globale sykdomsbyrden forårsaket av antibiotikaresistens og forekomsten er økende (25,26). 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 plasmidmedierte karbapenemasegener er ofte multiresistente og forårsaker infeksjoner med svært begrensede behandlingsmuligheter.

Karbapenemaseproduserende *Enterobacterales*

I 2022 ble det identifisert 152 pasienter med påvist karbapenemaseproduserende *Enterobacterales* (CPE) (Figur 9). Dette er en >150 % økning fra 60 tilfeller i 2021. Mistanke om import var angitt for 61 % av tilfellene, mens det for 8 % angitt at det ikke var mistanke om importsmitte. For 31 % av tilfellene var importsmitte uavklart.

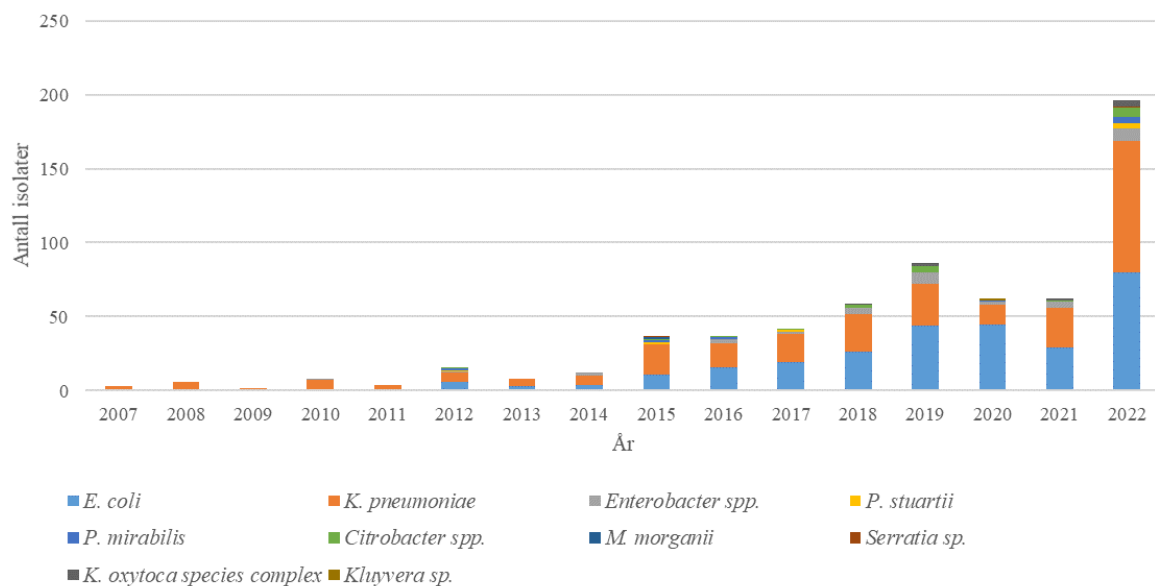
Blant tilfellene med mistanke om import var 39 % assosiert med mistanke om import fra Ukraina. Mistanke om import fra Ukraina utgjorde 24 % av alle tilfellene i 2022. Etter Ukraina stod mistanke om import fra et spesifikt land for ≤ 7 % av tilfellene med mistanke om import.



Figur 9. Antall tilfeller av CPE i Norge 2007-2022.

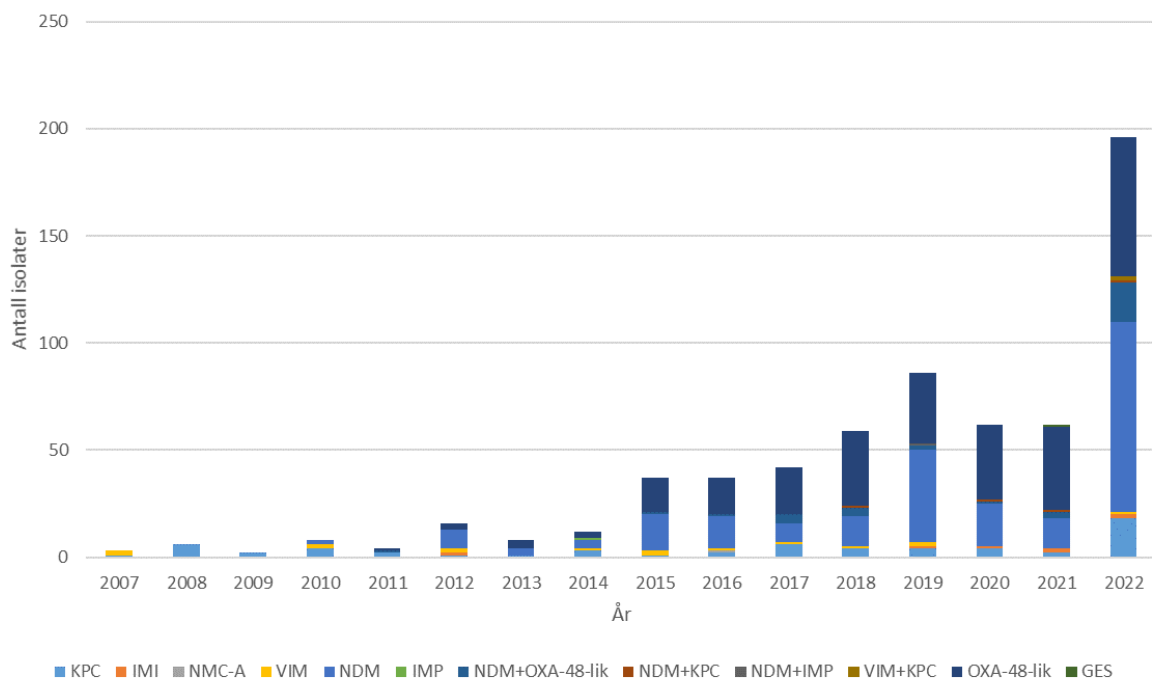
Totalt ble det påvist 196 CPE-isolater fra 152 pasienter i 2022 mot 62 isolater i 2021 (216 % økning). Hos 26 pasienter ble det påvist 2-6 CPE-isolater av forskjellige species/karbapenemasegener eller samme species, men forskjellige sekvenstyper (ST). 17 av disse tilfellene var assosiert med mistanke om import fra Ukraina. For 60 % av isolatene var det angitt at isolatet var påvist via screening, 3,1 % av isolatene ble påvist i blodkultur.

Som tidligere år var CPE populasjonen dominert av *Escherichia coli* og *Klebsiella pneumoniae* (Figur 10). Antall *E. coli* ($n=80$) i 2022 er en økning fra 29 isolater i 2021. Antall *K. pneumoniae* isolater økte fra 27 i 2021 til 89 i 2022. Antallet karbapenemaseproduserende *Enterobacterales* som ikke var *E. coli* eller *K. pneumoniae* økte fra fire i 2021 til 27 i 2022.



Figur 10. Antall CPE-isolater fordelt på bakteriespesies i Norge 2007-2022.

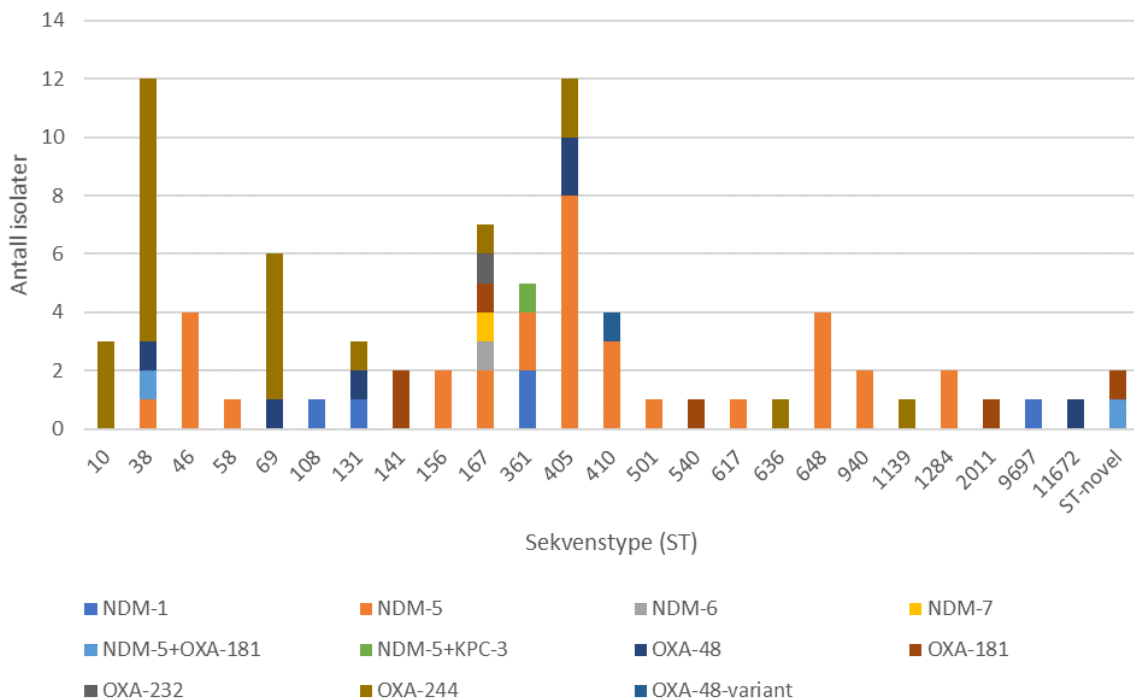
Isolater med NDM ($n=89$), OXA-48-varianter ($n=65$) eller både NDM og OXA-48 varianter ($n=18$) økte markant i 2022 sammenlignet med tidligere år (**Figur 11**). Spesielt økte andelen isolater med kun NDM fra 14 isolater i 2021 til 89 i 2022. Antall isolater med kun OXA-48-varianter økte også fra 39 i 2021 til 65 i 2022. Antallet isolater med NDM og OXA-48-varianter samt isolater med KPC økte også markant i 2022 sammenlignet med 2021.



Figur 11. Karbapenemasevarianter blant CPE isolater i Norge 2007-2022.

Generelt viste helgenomsekvensering en stor genetisk diversitet i forhold til ST og karbapenemasegener blant de forskjellige *Enterobacterales*.

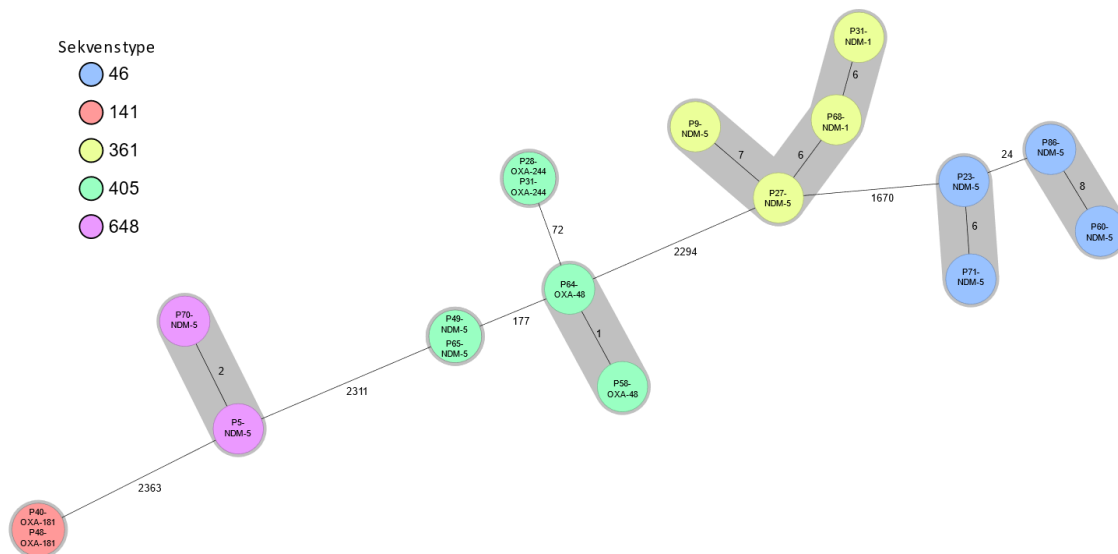
E. coli isolatene ($n=80$) fordelte seg på minimum 25 ST (**Figur 12**). To isolater tilhørte en til nå ukjent ST. ST38-OXA-244 ($n=9$) var den mest vanlige kombinasjonen etterfulgt av ST405-NDM-5 ($n=8$) og ST69-OXA-244 ($n=5$). De vanligste karbapenemasevariantene NDM-5 ($n=36$) og OXA-244 ($n=23$) ble påvist i henholdsvis 14 og åtte forskjellige ST. Hos tre isolater av forskjellig ST ble det påvist to karbapenemaser, to isolater hadde både NDM-5 og OXA-181, mens ett isolat hadde NDM-5 og KPC-3. Flere ST, inkludert de mest prevalente som ST38, ST405, ST167, ST69 etc.), er kjente globalt utbredte kloner av ekstraintestinale patogener *E. coli* (27).



Figur 12. Fordeling av ST og karbapenemasevariant blant de norske karbapenemaseproduserende *E. coli* isolatene fra 2022.

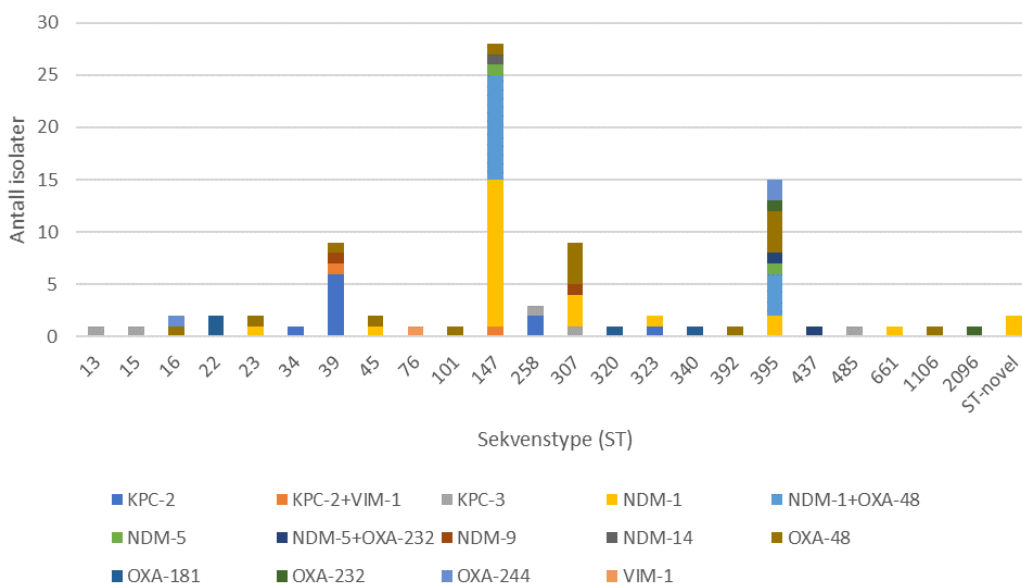
Slektskapsanalyse basert på kjernegenom-multilokussekvensstypning (cgMLST) viste åtte klynger bestående av nært beslektede isolater (**Figur 13**). Syv av klyngene bestod av to isolater. Klyngen med fire isolater representerer sannsynligvis to separate klynger siden henholdsvis to og to isolater hadde NDM-1 eller NDM-5. Seks av klyngene bestod av isolater hvor alle tilfellene var assosiert til import og i fire av disse ble isolatene påvist ved forskjellige laboratorier. Fire av klyngene var assosiert med import fra Ukraina. Dette indikerer at smittespredning har skjedd utenfor Norge. For to klynger var det mistanke om intern smittespredning i Norge. Ett tilfelle av sekundærsmitte av *E. coli* ST46-NDM-5 er mistenkt etter importtilfelle fra Ukraina. For klyngen bestående av *E. coli* ST141-OXA-181 var det ingen mistanke om import koblet til begge isolatene. Epidemiologisk undersøkelse viste ingen klar sammenheng mellom pasientene.

Prevalensen av *E. coli* ST38 med OXA-244 har økt i Europa assosiert til mulig smittespredning i samfunnet og det har tidligere vært påvist utbrudd i Norge (28). Av *E. coli* ST38-OXA-244 isolatene ($n=9$) påvist i Norge i 2022 var ingen av isolatene nært beslektet, men det er verdt å påpeke at for 8 av tilfellene var det ingen eller ikke oppgitt informasjon om importmistanke.



Figur 13. Minimum spanning nettverk av nært beslektede norske karbapenemaseproduserende *E. coli* fra 2022 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. Klynger av isolater med ≤ 10 allel forskjeller er uthevet med grå markering.

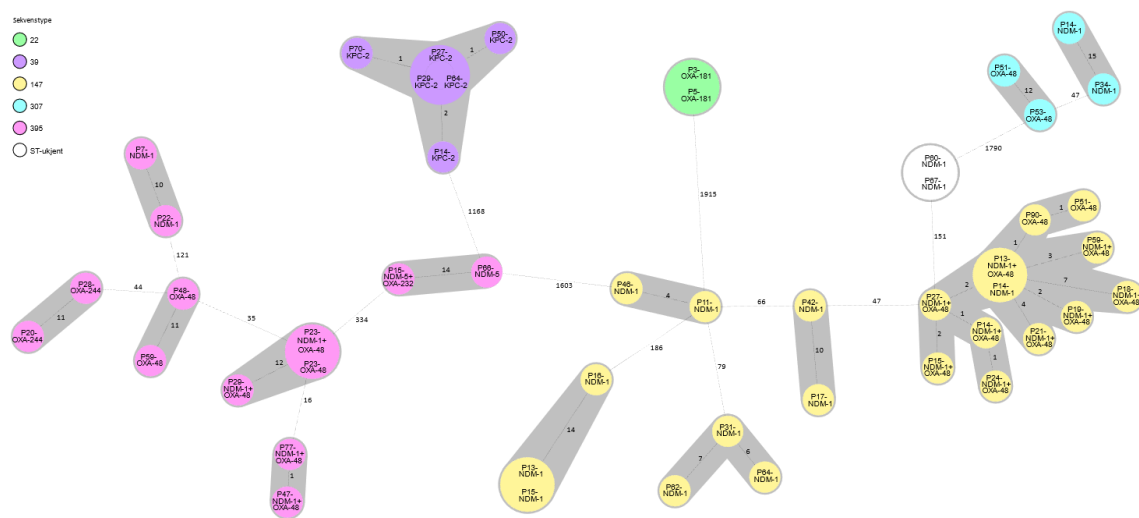
Karbapenemaseproduserende *K. pneumoniae* ($n=89$) fordelte seg på minimum 24 ST (**Figur 14**). To isolater tilhørte en til nå ukjent ST. Fire kjente globalt utbredte kloner (29, 30), ST147 ($n=28$), ST395 ($n=15$), ST39 ($n=9$) og ST307 ($n=9$), var dominerende og representerte 69 % av *K. pneumoniae* populasjonen. NDM-1 og NDM-1+OXA-48 var dominerende hos ST147 (24/28 isolater), mens seks av ni ST39 hadde KPC-2. Diversiteten av karbapenemasevarianter var større hos ST395 og ST307. To isolater med NDM-1 eller OXA-48 var genetisk hypervirulente og tilhørte ST23 som er en kjent hypervirulent klon (29).



Figur 14. Fordeling av ST og karbapenemasevariant blant de norske karbapenemaseproduserende *K. pneumoniae* isolatene fra 2022.

Slektskapsanalyse viste 16 klynger bestående av 2-12 nært beslektede isolater (**Figur 15**). Ti klynger bestod utelukkende av isolater med mistanke om import hvorav ni klynger inkluderte isolater med mistanke om import fra Ukraina. I flere av disse klyngene ble isolatene påvist ved forskjellige laboratorier i Norge og over en lang tidsperiode. Dette indikerer at smittespredning har skjedd utenfor Norge. Den største klyngen bestod av 12 ST147 isolater med NDM-1+OXA-48, NDM-1 eller OXA-48 alene påvist ved åtte laboratorier. Alle isolatene i denne klyngen var assosiert med mistanke om import fra Ukraina. ST147 er en kjent global *K. pneumoniae* klon assosiert med multiresistens (30).

Epidemiologisk undersøkelse bekreftet to tilfeller av videre smittespredning innad i Norge av isolat assosiert med mistanke om import fra henholdsvis Ukraina og Thailand. Dette inkluderte smittespredning av ST147 med NDM-1 og en ny ST variant med NDM-1. I begge tilfellene ble det kun påvist ett sekundært tilfelle. I tillegg var det mistanke om ett tilfelle med videre smittespredning etter import av ST395 med NDM-1 og OXA-48. Videre ble det påvist to nært beslektede ST22 isolater med OXA-181 koblet til ett pågående utbrudd ved ett sykehus i Norge.



Figur 15. Minimum spanning nettverk av nært beslektede 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. Klynger av isolater med ≤ 15 allel forskjeller er uthevet med grå markering.

Det ble påvist totalt 27 andre karbapenemaseproduserende *Enterobacterales* isolater i 2022 (Tabell 3) mot seks i 2021.

Tabell 3. ST-karbapenemasevariant kombinasjoner påvist blant *Enterobacter* spp., *K. oxytoca* species complex, *Citrobacter* spp., *P. mirabilis*, *P. stuartii* og *Serratia* spp. 2022

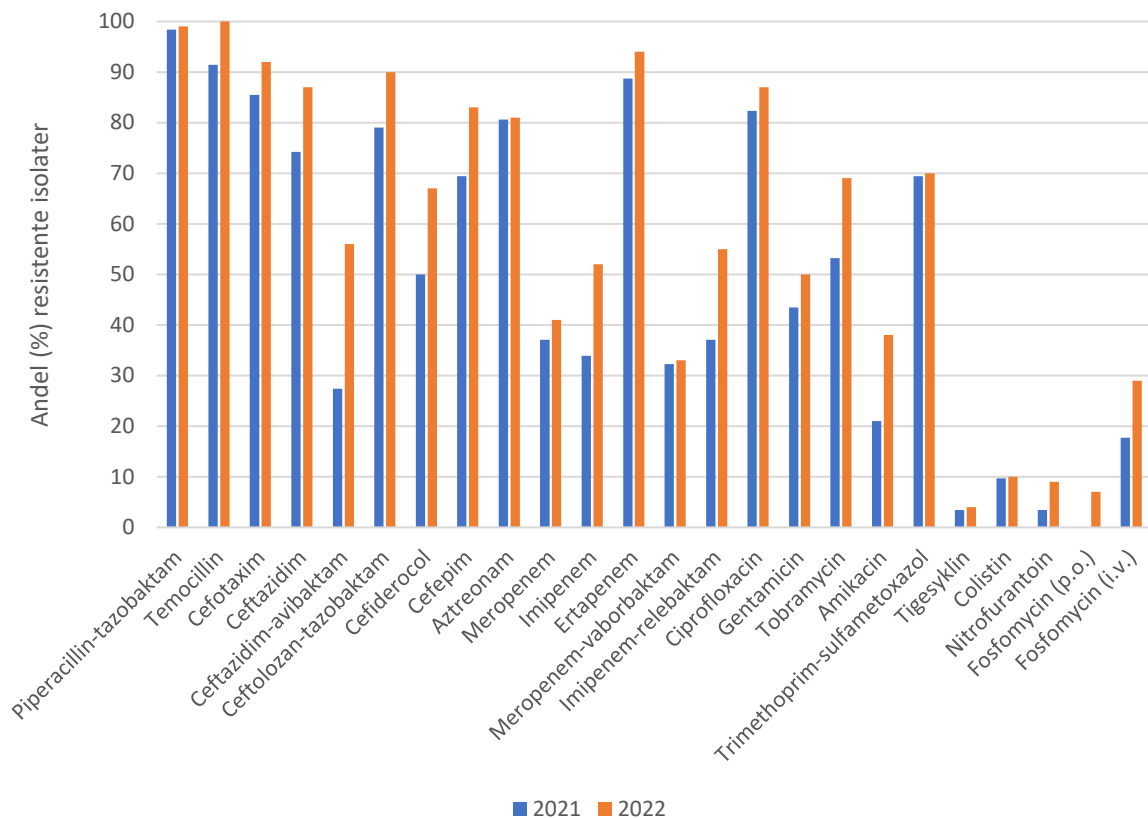
Species	ST-karbapenemasevariant kombinasjon
<i>E. hormaechei</i> (n=4)	ST231-NDM-1 (n=2); ST114-NDM-1 (n=1); ST121-NDM-7 (n=1)
<i>E. cloacae</i> (n=2)	ST1-NDM-1 (n=1); ST-novel-IMI-novel
<i>E. asburiae</i> (n=1)	ST484-NDM-1 (n=1)
<i>E. mori</i> (n=1)	ST-novel-IMI-6 (n=1)
<i>K. oxytoca</i> (n=2)	ST2-NDM-1 (n=1); ST19-NDM-1 (n=1)
<i>K. michiganensis</i> (n=2)	ST83-KPC-2 (n=1); ST376-OXA-181 (n=1)
<i>C. freundii</i> (n=3)	ST18-KPC-2 (n=1); ST18-OXA-232 (n=1), ST114-NDM-1 (n=1)
<i>C. amalonaticus</i> (n=3)	ST565-KPC-3 (n=1); ST-novel-NDM-1 (n=2)
<i>P. mirabilis</i> (n=4) ¹	NDM-1 (n=4)
<i>P. stuartii</i> (n=4) ¹	NDM-1 (n=2); NDM-5 (n=2)
<i>Serratia</i> spp. (n=1) ¹	OXA-48

¹ MLST ikke etablert.

Slektskapsanalyse av *P. stuartii* isolatene med cgMLST viste at isolatene med NDM-1 og NDM-5 tilhører to separate klynger som innad er nært beslektet. Alle fire isolatene er assosiert med import fra Ukraina og analyser utført ved National Institute for Public Health and the Environment i Nederland viser at de norske isolatene er nært beslektet med NDM-1- og NDM-5-produserende *P. stuartii* påvist i andre europeiske land fra pasienter med en kobling til Ukraina (Hendrickx A. et al. upubliserte data). Slektskapsanalyse av *E. hormaechei* ST231-NDM-1, *C. amalonaticus* ST-novel-NDM-1 og *P. mirabilis* NDM-1 ga ingen indikasjon om nært slektskap. To *P. mirabilis* NDM-1 isolater, begge assosiert med import og påvist ved forskjellige laboratorier, var adskilt med 23 singel nukleotid forskjeller.

Alle CPE isolater har blitt undersøkt med mikrobuljongfortynning for MIC bestemmelse, med unntak av cefiderocol som ble undersøkt med disk diffusjon (Figur 16). Den økte andelen av resistente isolater sammenlignet med 2021 skyldes i hovedsak økningen i NDM-produserende *Enterobacterales*. Ingen av de nyere β -laktamase inhibitorene (avibaktam, vaborbaktam og relebaktam) har inhiberende aktivitet mot metallo- β -laktamaser (MBL) inkludert NDM (31). Med bakgrunn i *in vitro* data og kliniske studier har ESCMID og IDSA anbefalt at kombinasjonsbehandling med ceftazidim-avibaktam og aztreonam kan være ett alternativ i behandling av alvorlige infeksjoner med MBL-produserende *Enterobacterales* (32-35). Bakgrunnen for bruk av denne kombinasjonen er at aztreonam er stabil mot nedbrytning av MBL, mens avibaktam har ett bredt spektrum av inhiberende aktivitet mot β -laktamaser som kan bryte ned aztreonam (ESBL, AmpC, samt klasse A og D karbapenemaser som KPC og OXA-48-varianter). K-res har utført en begrenset utprøving av metoder for synergitesting av ceftazidim-avibaktam-aztreonam som kan være veiledende ved svært multiresistente stammer med MBL (ESBL-CARBA-B) (36).

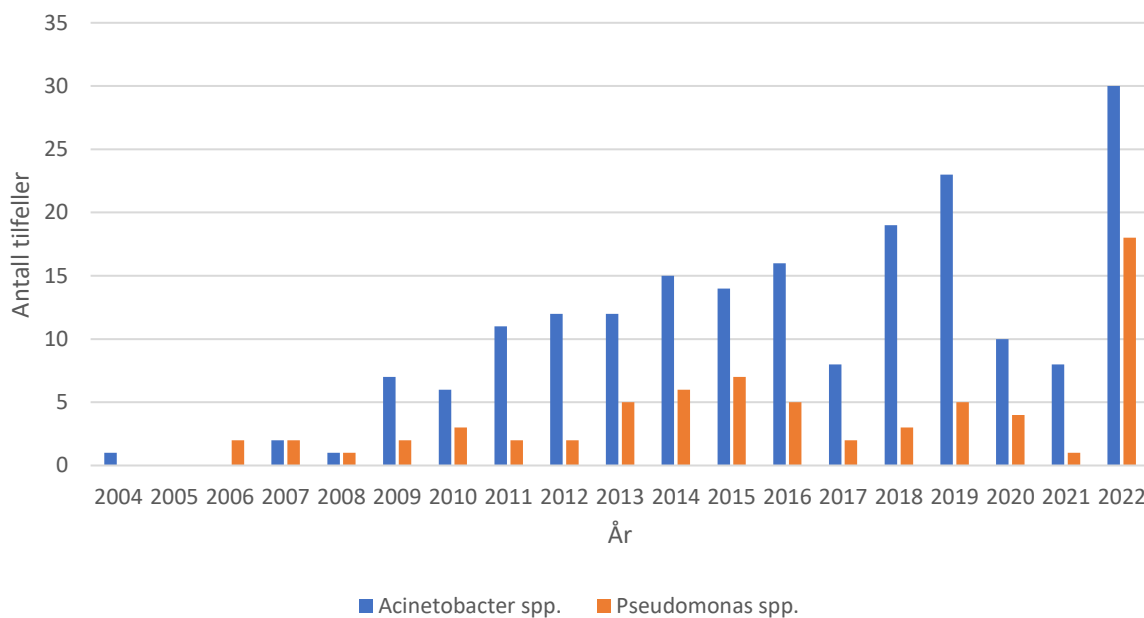
Tretten *E. coli* isolater med OXA-48-varianter hadde en meropenem MIC verdi under NordicAST screeningsbrytningspunkt (<0,25 mg/L) for undersøkelse for karbapenemaseproduksjon. Tidligere studie har vist at disk diffusjon og meropenem screeningsbrytningspunkt (<28 mm) er mer sensitivt enn bruk av MIC screeningsbrytningspunkt (37).



Figur 16. Andel (%) av resistente isolater for karbapenemaseproduserende *Enterobacterales* 2021 og 2022. Kategorisering etter NordicAST brytningspunkttabell v. 13. Piperacillin-tazobaktam MIC i ATU (16 mg/L) tolket som resistent. Temocillin gjelder *E. coli*, *Klebsiella* spp. (unntatt *K. aerogenes*) og *P. mirabilis*. Cefiderocol basert på disk diffusjon og sonediameter i ATU område (18-22 mm) tolket som resistent. Ciprofloxacin MIC i ATU (0,5 mg/L) tolket som resistent. Tigesyklin, nitrofurantoin og fosfomycin (p.o.) gjelder kun *E. coli*. 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 *Enterobacterales*. Dette gjelder spesielt *K. pneumoniae* (38,39).

Pseudomonas spp.

Det ble i 2022 isolert karbapenemase-produserende *Pseudomonas* fra til sammen 18 pasienter. Seks var fra screening og 12 fra kliniske prøver. Dette er en betydelig økning sammenlignet med totalt fire isolater i 2020 og ett i 2021 (**Figur 17**). Funnene var i stor grad knyttet til import ($n=17$), hovedsakelig fra Ukraina ($n=13$). Ett av isolatene ble identifisert som *P. mendiosa*, mens *P. aeruginosa* utgjorde resten.

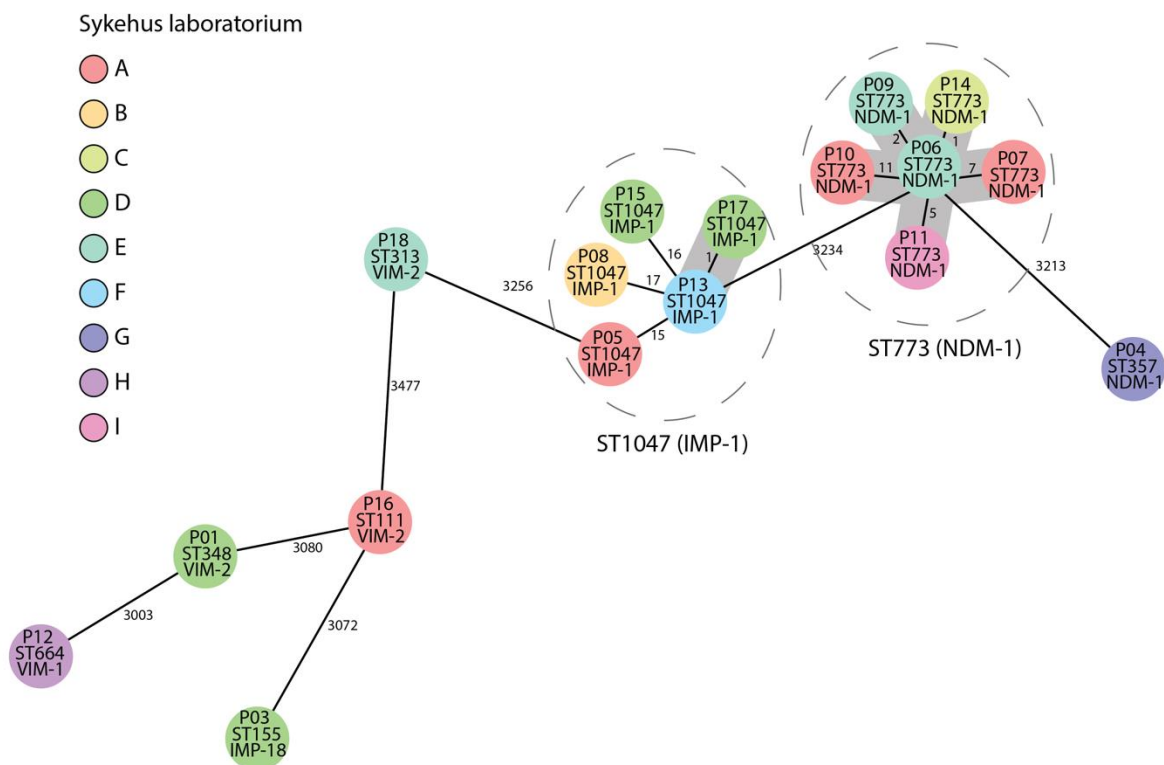


Figur 17. Antall karbapenemaseproduserende *Pseudomonas* spp. og *Acinetobacter* spp. påvist i Norge 2004-2022.

For *P. aeruginosa* ble det identifisert til sammen fem ulike karbapenemaser (VIM-1, VIM-2, IMP-1, IMP-18 og NDM-1) fordelt på åtte ulike sekvenstyper, der ST773 med NDM-1 ($n=6$) og ST1047 med IMP-1 ($n=5$) utgjorde flertallet. Av globalt utbredte høy-risiko *P. aeruginosa* kloner (40), påviste vi ST111 ($n=1$) og ST357 ($n=1$).

ST773 og ST1047 isolatene ble påvist ved flere ulike sykehus i Norge. Selskapsanalyse basert på cgMLST (**Figur 18**) viste nært slektskap mellom alle ST773 isolatene (1-11 allelforskjeller) og mellom to av ST1047 isolatene (1 allelforskjell). Alle isolater tilhørende både ST1047 og ST773 ble isolert fra ukrainske pasienter. Det er ingen holdepunkter på overføring mellom pasienter på norske sykehus.

P. mendiosa, også isolert fra en ukrainsk pasient, kodet for karbapenemasevarianten VIM-1.



Figur 18. Minimum spanning tre av norske karbapenemaseproduserende *P. aeruginosa* fra 2022 basert på 3867 kjernegenom alleler ved bruk av SeqSphere programvare. Hver sirkel representerer ett isolat (P01 til P18), der fargekodene angir på hvilket sykehus laboratorium de er isolert (A til I), og ST og karbapenemasevariant er vist. Antall allel forskjeller mellom isolatene er indikert. ST1047 og ST773 isolatene er markert med stiplet linje og isolater som danner klynger med ≤ 12 allel forskjeller er uthevet med grå markering.

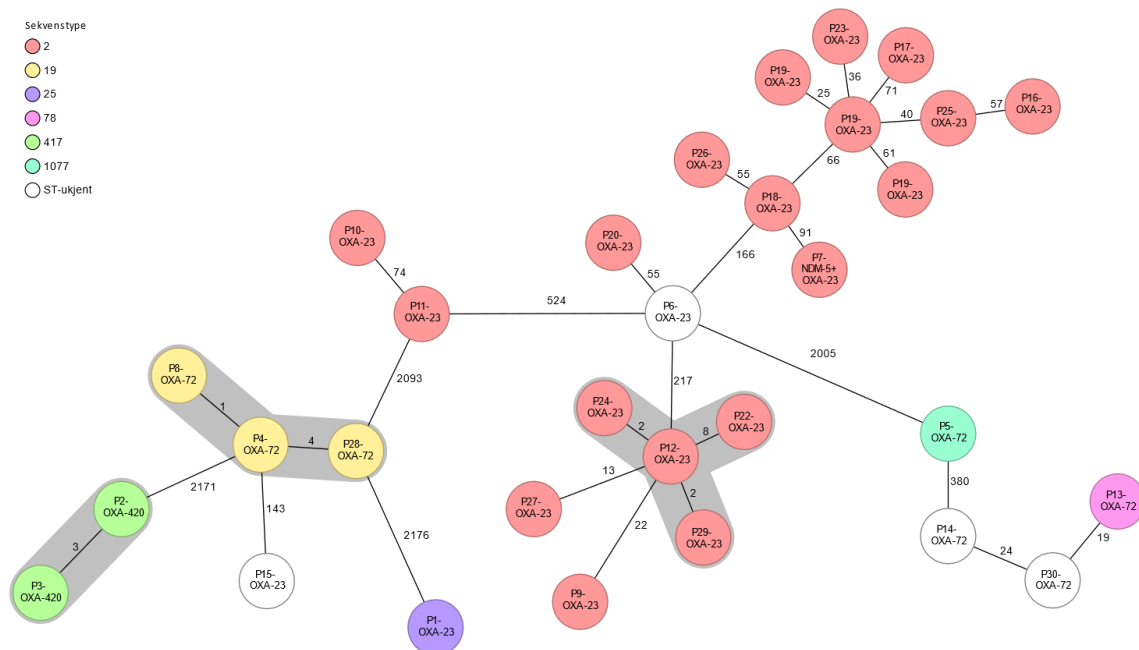
Acinetobacter spp.

Det ble i 2022 påvist 30 tilfeller med karbapenemaseproduserende *Acinetobacter* spp. i Norge mot 8 i 2021 (**Figur 17**). 26 tilfeller var assosiert med mistanke om import hvorav 15 fra Ukraina. For to tilfeller forelå det ikke mistanke om import, mens for to tilfeller var mistanke om import uavklart.

Totalt ble det påvist 32 isolater hvorav 31 var *Acinetobacter baumannii*. Hos en pasient ble det påvist tre genetisk ulike *A. baumannii* ST2 med OXA-23. Ett OXA-72-produserende *Acinetobacter pittii* isolat ble påvist.

Nitten av *A. baumannii* isolatene tilhørte den dominerende globale klonen ST2 (41) med OXA-23 ($n=18$) eller OXA-23+NDM-1 ($n=1$). Andre ST-karbapenemasekombinasjoner inkluderte; ST19-OXA-72 ($n=3$), ST417-OXA-420 ($n=2$), ST25-OXA-23 ($n=1$), ST78-OXA-72 ($n=1$), ST1077-OXA-72 ($n=1$) og fire isolater tilhørende en til nå ukjent ST med OXA-23 ($n=2$) eller OXA-72 ($n=2$).

Helgenomanalyse viste tre klynger av nært beslektede isolater (≤ 9 allel forskjeller) (**Figur 19**). To av klyngene bestod av henholdsvis ST2-OXA-23 ($n=4$) og ST19-OXA-72 ($n=3$) isolater hvor alle tilfellene var koblet til mistanke om import fra Ukraina. En klynge bestående av to ST417-OXA-420 isolater ble påvist ved ett laboratorium. For ett av ST417-OXA-420 tilfellene forelå det ikke mistanke om import og epidemiologisk undersøkelse indikerer smittespredning.



Figur 19. Minimum spanning nettverk av norske karbapenemaseproduserende *A. baumannii* fra 2022 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. Klynger av isolater med ≤ 9 allel forskjeller er uthevet med grå markering.

Konklusjon: Forekomsten av karbapenemaseproduserende Gram-negative bakterier økte markant i 2022 sammenlignet med 2021 og tidligere år. Økningen skyldes en sannsynligvis en kombinasjon av økning i andel tilfeller med mistanke om importsmitte etter opphevelse av reiserestriksjoner etter COVID-19 pandemien og tilfeller med mistanke om import fra Ukraina i forbindelse med overføring av skadde pasienter. Helgenomsekvensering viser en stor grad av genetisk diversitet, men dominans av kjente globalt utbredte kloner assosiert med spesifikke karbapenemasegener. Klynger av genetisk nært beslektede isolater ble påvist både blant *Enterobacterales*, *Pseudomonas aeruginosa* og *Acinetobacter baumannii*. I hovedsak bestod disse klyngene av isolater assosiert med mistanke om import spesielt fra Ukraina. I flere av disse klyngene ble isolatene påvist ved forskjellige laboratorier som indikerer at smittespredning har skjedd før ankomst til Norge. Påvisning av videre smittespredning i Norge og klynger av isolater uten klar epidemiologisk kobling og mistanke om import er bekymringsfullt.

Overførbar kolistinresistens hos Gram-negative bakterier

Kolistin er i henhold til AFAs anbefalte resistenspaneler (42) ett reservemiddel og hvor testing bør utføres ved resistens mot klinisk relevante første- og andrehandsmidler. Videre er buljongfortynning eneste anbefalte metode for resistensbestemmelse (43) og ikke etablert ved alle laboratorier. Følsomhetstesting for colistin inngår heller ikke i NORM-programmet. Overvåking 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 for påvisning av overførbare kolistinresistensgener (*mcr*-gener). Andre isolater som gjennomgår helgenomsekvensering uavhengig av kolistinresistens vil også undersøkes for overførbare kolistinresistensgener.

I 2022, ble det påvist overførbare kolistinresistensgener med HGS hos fire isolater fra fire pasienter (**Tabell 4**). For tre av tilfellene forelå det ingen mistanke om import, mens import mistanke for ett tilfelle var uavklart. Alle isolatene var positiv for *mcr*-varianten *mcr-9.1* og alle isolatene var følsomme for colistin (MIC: 0,5 mg/L). Det er kjent at *mcr-9*-varianter ikke er assosiert med kolistinresistens (44), men uttrykket kan induseres ved tilstedeværelse av kolistin og gi nedsatt følsomhet for kolistin (45). Tre av isolatene var karbapenemaseproduserende og *mcr* ble påvist via helgenomsekvensering av karbapenemaseproduserende isolater. Det *mcr*-positive *E. hormaechei* isolatet ble påvist via sekvensering i forbindelse med en utbruddsopklaring.

Tabell 4. Isolater med påvist overførbart kolistinresistensgen (*mcr*) i 2022

Species	ST	<i>mcr</i> -gen	Karbapenemasevariant
<i>C. freundii</i>	ST18	<i>mcr-9.1</i>	KPC-2
<i>C. freundii</i>	ST18	<i>mcr-9.1</i>	OXA-232
<i>E. asburiae</i>	ST484	<i>mcr-9.1</i>	NDM-1
<i>E. hormaechei</i>	ST306	<i>mcr-9.1</i>	Negativ

Konklusjon: Overførbar kolistinresistens er sjelden i Norge, men overvåkingen er ufullstendig og kun koblet til referanseundersøkelse av selekterte multiresistente stammer. Videre er overvåkingen av overførbare kolistinresistensgener utfordrende siden ikke alle *mcr*-varianter er assosiert med fenotypisk kolistinresistens.

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 2021. Usage of Antimicrobial Agents and Occurrence of Antimicrobial Resistance in Norway. Tromsø / Oslo 2021. 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*, 6th Edition. Wolters Kluwer. 2015. ISBN-13: 978-1-4511-7675-9.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. 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>.
10. 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>.
11. Pöntinen AK, Top J, Arredondo-Alonso S, Tonkin-Hill G, Freitas AR, Novais C, Gladstone RA, Pesonen M, Meneses R, Pesonen H, Lees JA, Jamrozny D, Bentley SD, Lanza VF, Torres C, Peixe L, Coque TM, Parkhill J, Schürch AC, Willems RJL, Corander J. Apparent nosocomial adaptation of *Enterococcus faecalis* predates the modern hospital era. *Nat Commun.* 2021 Mar 9;12(1):1523. doi: 10.1038/s41467-021-21749-5.
12. Wagenvoort JH, De Brauwier EI, Penders RJ, Willems RJ, Top J, Bonten MJ. Environmental survival of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *J Hosp Infect.* 2011;77:282-3. doi: 10.1016/j.jhin.2010.11.008.
13. Gorrie CL, Da Silva AG, Ingle DJ, Higgs C, Seemann T, Stinear TP, Williamson DA, Kwong JC, Grayson ML, Sherry NL, Howden BP. Key parameters for genomics-based real-time detection and tracking of multidrug-resistant bacteria: a systematic analysis. *Lancet Microbe.* 2021;2:e575-e583. doi: 10.1016/S2666-5247(21)00149-X.
14. 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.
15. 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.drug.2018.10.002.
16. 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.
17. 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.
18. 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.
19. 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.
20. 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.
21. 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.

22. 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.
23. 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.
24. Vancomycin and linezolid resistant enterococci in Norway 2021, by K. Hegstad, J. Janice, A. Sundsfjord, P. Elstrøm and O. Kacelnik p. 127-132 in NORM/NORM-VET 2021. Usage of Antimicrobial Agents and Occurrence of Antimicrobial Resistance in Norway. Tromsø/Oslo 2022. ISSN:1502-2307 (print)/1890-9965 (electronic)
25. 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.
26. 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.
27. 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.
28. European Centre for Disease Prevention and Control. OXA-244-producing *Escherichia coli* in the European Union/European Economic Area and the UK since 2013, first update – 20 July 2021. ECDC: Stockholm; 2021.
29. 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.
30. Rodrigues C, Desai S, Passet V, Gajjar D, Brisse S. Genomic evolution of the globally disseminated multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* clonal group 147. *Microb Genom*. 2022 Jan;8(1):000737. doi: 10.1099/mgen.0.000737.
31. 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.
32. Paul M, Carrara E, Retamar P, Tangden T, Bitterman R, Bonomo RA, et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) guidelines for the treatment of infections caused by multidrug-resistant Gram-negative bacilli (endorsed by European society of intensive care medicine). *Clin Microbiol Infect*. 2022;28(4):521-47.
33. Tamma PD, Aitken, S. L., Bonomo, R. A., Mathers, A. J., van Duin, D., Clancy, C. J. IDSA guidance on the treatment of antimicrobial-resistant Gram-negative infections: version 1.0. IDSA. 2022;3/7/2022.
34. Falcone M, Daikos GL, Tiseo G, Bassoulis D, Giordano C, Galfo V, et al. Efficacy of ceftazidime-avibactam plus aztreonam in patients with bloodstream infections caused by metallo- β -lactamase-producing *Enterobacterales*. *Clin Infect Dis*. 2021;72(11):1871-8.
35. Karlowsky JA, Kazmierczak KM, de Jonge BLM, Hackel MA, Sahn DF, Bradford PA. *In vitro* activity of aztreonam-avibactam against *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa* isolated by clinical laboratories in 40 countries from 2012 to 2015. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(9).
36. Nasjonal kompetansetjeneste for påvisning av antibiotikaresistens: <https://unn.no/fag-og-forskning/k-res/synergitestning-ceftazidim-avibaktam-aztreonam>
37. Haldorsen B, Giske CG, Hansen DS, Helgason KO, Kahlmeter G, Löhr IH, Matuschek E, Österblad M, Rantakokko-Jalava K, Wang M, Småbrekke L, Samuelsen Ø, Sundsfjord A; NordicAST CPE Study Group. Performance of the EUCAST disc diffusion method and two MIC methods in detection of *Enterobacteriaceae* with reduced susceptibility to meropenem: the NordicAST CPE study. *J Antimicrob Chemother*. 2018 Oct 1;73(10):2738-2747. doi: 10.1093/jac/dky276.
38. 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.diagmicrobio.2018.07.014.
39. 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.
40. Del Barrio-Tofiño E, López-Causapé C, Oliver A. *Pseudomonas aeruginosa* epidemic high-risk clones and their association with horizontally-acquired β -lactamases: 2020 update. *Int J Antimicrob Agents*. 2020 Dec;56(6):106196. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.106196.
41. 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
42. 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>
43. 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.
44. Tyson GH, Li C, Hsu CH, Ayers S, Borenstein S, Mukherjee S, Tran TT, McDermott PF, Zhao S. The *mcr-9* Gene of *Salmonella* and *Escherichia coli* Is Not Associated with Colistin Resistance in the United States. Antimicrob Agents Chemother. 2020 Jul 22;64(8):e00573-20. doi: 10.1128/AAC.00573-20.
 45. Kieffer N, Royer G, Decousser JW, Bourrel AS, Palmieri M, Ortiz De La Rosa JM, Jacquier H, Denamur E, Nordmann P, Poirel L. *mcr-9*, an Inducible Gene Encoding an Acquired Phosphoethanolamine Transferase in *Escherichia coli*, and Its Origin. Antimicrob Agents Chemother. 2019 Aug 23;63(9):e00965-19. doi: 10.1128/AAC.00965-19.