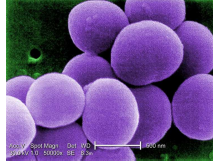




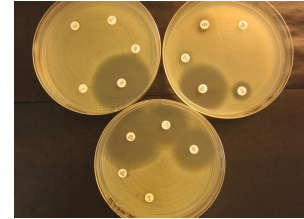
## Resistens hos gule stafylokokker

AFA-kurs 15.11.17  
Overlege Hege Enger  
MRSA referanselab



## Disposisjon

- Kort om stafylokokker
- Oversikt over resistens hos stafylokokker. NORM
- Penicillinresistens
- Meticillinresistens
- Kort om linezolidresistens
- Kilder



## Stafylokokker

- *S. aureus*
  - Penetrerer skadet hud eller slimhinne
  - Infeksjoner hos friske og immunsvekkede
    - Vanligste agens ved postoperative infeksjoner
    - Hud-og bløtdelsinfeksjoner, abscesser
    - Artritt, osteomyelitt
    - Mastitt
    - Endokarditt
    - Sepsis (nest vanligste årsak til bakteriem i Norge etter E.coli)
    - Pneumoni
  - Toksinbetingede sykdomsbilder:
    - Toksisk sjokk syndrom
    - Matforgiftning



## *S. aureus*

- Kolonisering vanlig(N/H/P):
  - 20 % permanente bærere
  - 30% intermitterende bærere
  - 50 % aldri bærere

Ammerlaan, CID 2009

## *S. aureus* i blodkultur 2016(NORM)

	S	I	R
Erytromycin	94.8	0.1	5.1
Klindamycin	98.1	0.6	1.4
Fucidin	95.5		4.5
Ciprofloxacin	93.1		6.9
Gentamicin	99.6		0.4
Linezolid	100		0
Rifampicin	99.2	0.8	0
Tetracycline	96.6	0.2	3.3
Tigecykline	99.8	0	0.2
Betalaktamase	27.3		72.7
TMS	99.7	0.1	0.2
MRSA( <i>mecA</i> )	99.0		1.0

## *S. aureus* i sår 2016(NORM)

	S	I	R
Erytromycin	94.0	0.1	5.9
Klindamycin	98.1	0.6	1.3
Fucidin	92.7		7.3
Ciprofloxacin	95.3		4.7
Gentamicin	99.0		1.0
Linezolid	100.0		0
Rifampicin	98.4	1.3	0.3
Tetracycline	94.5	0.3	5.2
Tigecykline	99.9	0	0.1
TMS	99.4	0.2	0.4
Betalaktamase	23.5		76.5
MRSA( <i>mecA</i> )	98.4		1.6

## Penicillinresistens *S. aureus*

- Skyldes plasmidbårne penicillinaser
  - Kodes for av *blaZ*-gen
- Hydrolyserer betalaktamringen og gjør medikamentene uvirksomme
- Penicillinaseproduksjon betyr resistens mot:
  - Benzylpenicillin
  - Fenoksymetylpenicillin
  - Ampicillin
  - Amoxicillin

## Historikk

- Penicillinresistens påvist fra 1942
  - 2 år etter at penicillin ble introdusert
- Fra 60-tallet: ca 70-90% av alle meticillinsensitive *S. aureus* var betalaktamaseproduserende
- NORM 2016:
  - 72.7 % av *S. aureus* i blodkultur produserer betalaktamase
  - 76.5 % av *S. aureus* i sår produserer betalaktamase
  - Stabile tall

## Tester for penicillinresistens

- Lappediffusjon
- Kløverblad
- Påvisning av *blaZ*-gen

## Lappediffusjon

- Benzylpenicillin 1 U, Muller Hinton agar
- Sonestørrelse og sonekant
- Sensitiv  $\geq 26$  mm og diffus sone
- Resistens  $< 26$  mm eller skarp sonekant



## OBS

- Betalaktamaseproduserende stammer kan ha MIC-verdi under S-brytningspunktet
- Penicillinbehandling av spesielt de alvorlige *S. aureus*-infeksjonene krever en pålitelig test

### Staphylococci and benzylpenicillin

- Examine with transmitted light (plate held up to light).
  - Disk diffusion is more reliable than MIC for detection of penicillinase producers, provided the zone diameter is measured AND the zone edge closely inspected.



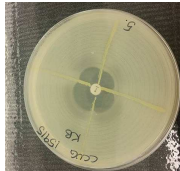
*S. aureus* with sharp zone edge and zone diameter  $\approx 26$  mm = Resistant

*S. aureus* with fuzzy zone edge and zone diameter  $\approx 26$  mm = Susceptible

Reading guide EUCAST

## Kløverblad

- Penicillinfølsom *S. aureus* (*blaZ* negativ) med inokulum 0,5 McFarland spres utover agaren
- Tørke
- Teststamme *S. aureus* i kryss
- Penicillinlapp (1U) i midten av krysset
- Inkuberes 18 timer i 35 grader CO<sub>2</sub>



## Kløverblad

- Sensitiv og spesifikk
- Brukes om tvil ved vurdering av sonekant
  - Bekrefte betalaktamaseproduksjon
- På kliniske viktige penicillinfølsomme stammer

## Påvisning av *blaZ*-gen

- Vil påvise stammer også i *S*-området, dvs falske positive
  - Stammer som ikke har funksjonelt *blaZ*-gen
- Falske negative:
  - Primer mismatch (mutasjoner)
- Må sammenholdes med fenotypiske metoder
- Kan vurderes på alvorlige inf. der penicillin er *S* og penicillin er et behandlingsalternativ

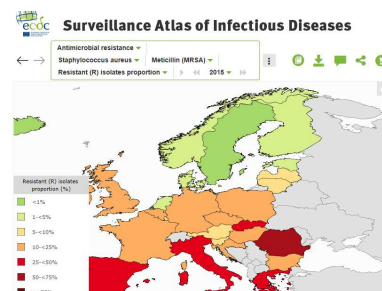
## Meticillinresistens

- Meticillinresistente *S. aureus* = MRSA
- Påvist i 1961
  - 2 år etter at meticillin ble tatt i bruk
- 1960-70-tallet: spredning av epidemiske kloner i sykehus
  - **HA-MRSA** (sykehuservervet MRSA, ofte multiresistente)
- 2000-tallet: samfunnsvervet MRSA blir vanligere
  - **CA-MRSA** (sjelden multiresistente, ofte PVL-positive)
- Fra 2003: dyreassosiert MRSA påvist hos mennesker
  - **LA-MRSA**

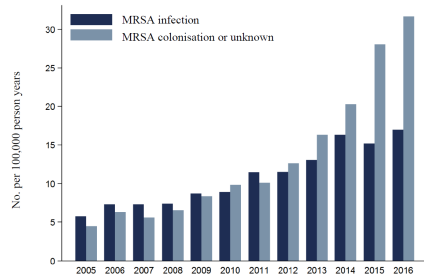
## Hva er MRSA?

- *S. aureus*+ et nytt gen: *mecA* (evt *mecC*)
- *mecA* koder for et endret penicillinbindende protein: PBP2a (PBP2c) med lav affinitet for betalaktamantibiotika
  - Celleveggsyntesen fortsetter
  - Resistens mot alle betalaktamantibiotika
    - Unntak: ceftarolin og ceftobiprol
- *mecA* sitter i en kromosomkassett (SCC*mec*)
  - kan inneholde andre resistensgener
    - f eks makrolider, klindamycin, TMS, tetracykliner, cipro

## MRSA forekomst 2015



## MRSA i Norge



## MRSA i Norge 2016(NORM)

- Andel MRSA av *S. aureus* i BK: 1,0%
- Andel MRSA av *S. aureus* i sår: 1,6%
- Stabile tall

## Påvisning av meticillinresistens

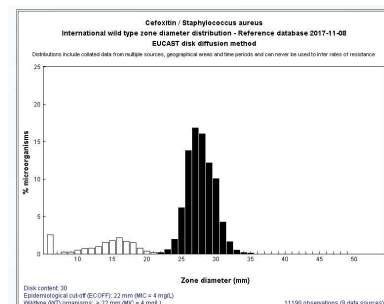
- Silemetode
  - Resistenstesting mtp behandling
  - Resistensovervåking
- Screeningmetode
  - Utbrudd
  - Forhåndsundersøkelse etter MRSA veilederen

## Påvisning av MRSA

- Meticillinresistens kodes av *mecA* eller *mecC*
  - Overføres som en del av *SCCmec* (mobilt genetisk element)
- Påvises ved ceftoxitin lappediffusjon
- Screening:
  - dyrkning på kromogene medier (direkte eller etter anrikning)
  - PCR (direkte eller etter anrikning)
- Konfirmasjon av *mecA*, evt *mecC* + et *S. aureus*-spesifikt gen

## Silemetode

- Cefoxitinlapp 30 µg på Muller Hinton agar
- Inkuberes i romluft (OBS enkelte MRSA er CO<sub>2</sub>-avhengige)
- *S. aureus*
  - S<sub>z</sub> ≥ 22 mm
  - R < 22 mm
- Cefoxitin sonediameter korrelerer bra med forekomst av *mecA*-genet
- Pålitelig for *S. aureus*
  - OBS identitet



## MRSA konfirmasjon

- Konfirmasjon med påvisning av *mecA*-genet + *S.aureus*-spesifikt gen (*nuc* eller *spa*)
  - *mecA* PCR
  - evt PBP2a agglutinasjon
- *mecC* PCR dersom cefoxitin R og neg *mecA*

## MRSA screening

- Mange muligheter
- Dyrkningsbasert eller gendeteksjonsbasert
- Utfordringer:
  - Få kolonier MRSA
  - Blandingsflora inkl meticillinresistente KNS
  - Vanskelig å sammenligne studier
    - Ulike genotyper i ulike geografiske områder
    - Ulik bruk av medier, prøvelokaliteter, PCR-metoder, evt anrikning
  - Ingen entydig gullstandard
- Nytt metodokument Nordicast!

## Nye MRSA-stammer

- Sendes referanselaboratoriet for MRSA ved St Olavs hospital
  - Konfirmasjon
  - Genotyping
    - hovedsakelig spatyping, evt MLST, evt WGS. PVL
  - Stammebank

## Oppsummering meticillinresistens

- Cefocitin lappediffusjon best egnet til å skille mellom *mecA/mecC*-positive og negative isolater
- Konfirmeres med *mecA/mecC*
- Bekreftede meticillinresistente stammer rapporteres R for alle betalaktamer
  - Unntak: ceftarolin og ceftobiprole

## Linezolid

- Viktig reservemiddel ved infeksjoner med grampositive mikrober
- Første gang påvist linezolidresistens i MRSA og MSSA i Norge i 2016
- Bekymringsfullt fordi:
  - kan bl a skyldes resistens som kan overføres mellom ulike stafylokokker og enterokokker

## Resistens linezolid

- Resistens påvises ved lappediffusjon 10 µg
  - $\geq 21$  mm
  - $R < 21$  mm
- OBS endret brytningspunkt fra 19-21 mm
- "Zone edges should be read at the point of complete inhibition as judged by the naked eye with the plate held about 30 cm from the eye"
- Hold skålen opp mot lyset



*S. aureus*  
Linezolid

## Kilder

- <https://unn.no/fag-og-forskning/arbeidsgruppen-for-antibiotikasporsmal-og-metoder-for-resistensbestemmelse-afa>
- <http://www.nordicast.org/>
  - Brytningspunkttabell
  - Metodedokumenter for betalaktamasetesting og MRSA screening
- <http://www.eucast.org/>
  - Reading guide mm
- <https://ecdc.europa.eu/en>
- <https://stolav.no/fag-og-forskning/lab/nasjonalt-referanselaboratorium-mrsa>
- <https://www.vetinst.no/overvaking/antibiotikaresistens-norm-vet>

