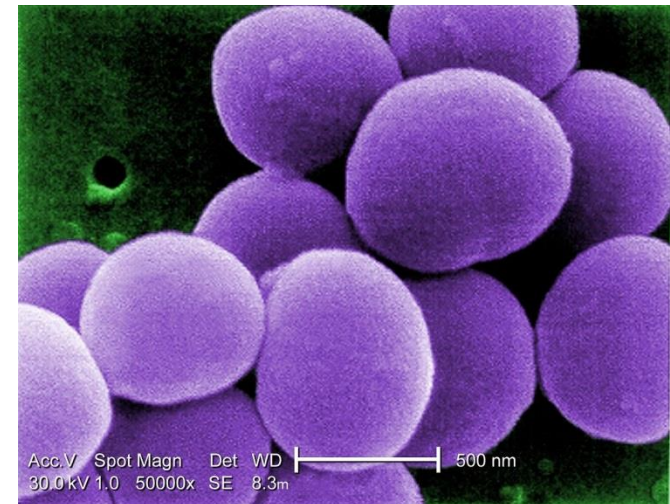


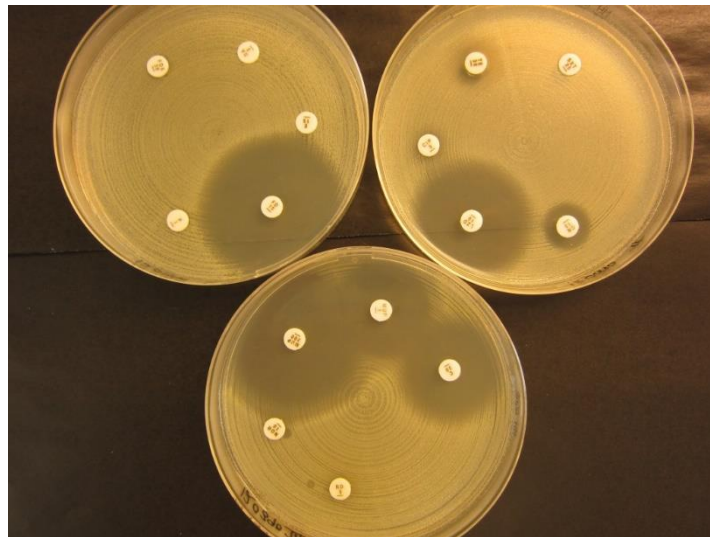
Resistens hos gule stafylokokker

AFA-kurs 14.01.26
Overlege Hege Enger
MRSA referanselaboratorium
St. Olavs hospital



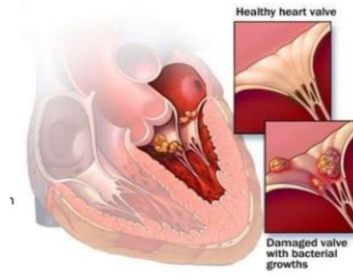
Disposisjon

- Kort om stafylokokker, bærerskap og infeksjoner
- Penicillinresistens
- Meticillinresistens (MRSA)
- Kort om linezolidresistens



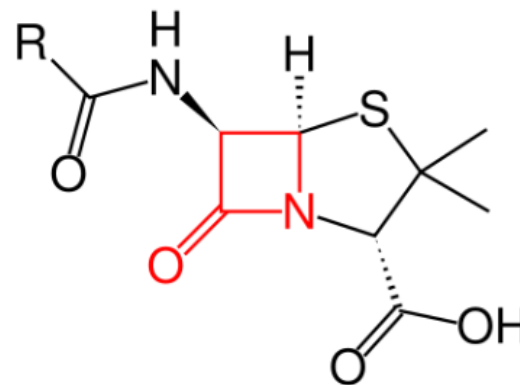
Staphylococcus aureus

- Bærerskap
 - Vanlig på slimhinner hos pattedyr og fugler
 - Ca 30 % nesebærerskap hos mennesker
- Infeksjoner
 - Stor variasjon fra banale infeksjoner, toksinmedierte infeksjoner til invasive infeksjoner med høy dødelighet



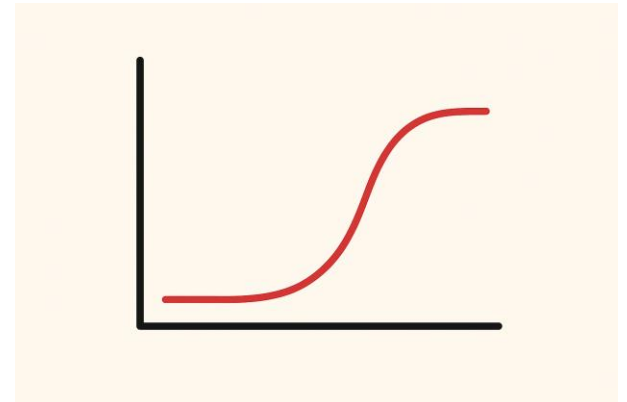
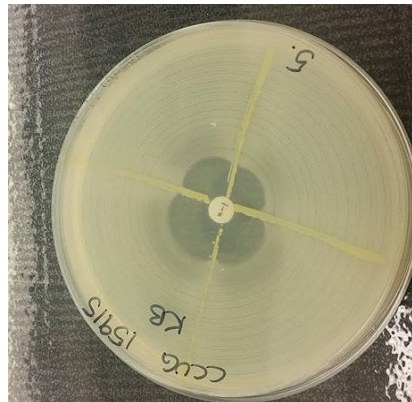
Penicillinresistens *S. aureus*

- Forekomst: ca 70% av gule stafylokokker
 - (litt variasjon, faktisk synkende resistensforekomst siste årene*)
- Skyldes penicillinaser (enzymer)
 - Ofte plasmidbårne, kan også være kromosomalt
 - *blaZ*-gen
- Hydrolyserer betalaktamringen → penicilliner virker ikke
- Penicillinaseproduksjon betyr resistens mot:
 - Benzylpenicillin
 - Fenoksymetylpenicillin
 - Ampicillin
 - Amoxicillin



Penicillinresistens, metoder

- Lappediffusjon. Standardmetode
- Kløverblad
- Påvisning av *blaZ*-gen (PCR)
- (Betalaktamasetester basert på kromogent cefalosporin har utilstrekkelig sensitivitet for påvisning av betalaktamase hos *S. aureus*)

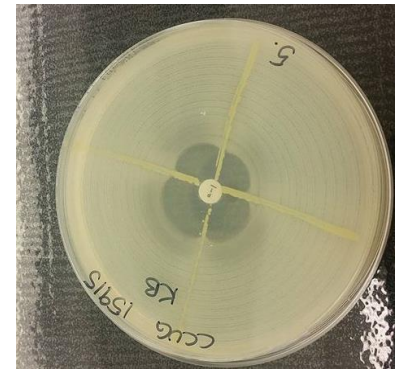


Lappediffusjon penicillin (*S.aureus*)

- Benzylpenicillin 1 U, Muller Hinton agar
- Sonestørrelse: avlesning mot mørk bakgrunn som vanlig
- Sonekant: holde opp mot lyset
- S ved sone ≥ 26 mm **og** diffus sone/strandsone
- R ved sone < 26 mm **eller** skarp sonekant uavhengig av mm-sone



Kløverblad



- Brukes ved tvil om resultat av lappediffusjon
 - konfirmasjon av penicillin S ved viktige isolater! Aktualisert pga SNAP-studien*
- Penicillinfølsom *S. aureus* spres utover agaren, la tørke
- Teststamme *S. aureus* i kryss
- Penicillinlapp (1U) i midten av krysset
- Inkuberes 18 timer i 35 grader CO₂
- Dersom teststammen (i kryss) har betalaktamase:
 - penicillin som diffunderer fra lappen blir inaktivert av enzym fra teststammen
 - →soner som danner kløverbladmønster
- Dersom teststammen IKKE har betalaktamase:
 - rund sone rundt lapp
- OBS ta med positiv og negativ kontroll
- Veldig god sensitivitet og spesifisitet**

*<https://www.snaptrial.com.au/>

**Skov et al 2021: Evaluation of methods for detection of β -lactamase production in MSSA

Påvisning av *blaZ*-gen (PCR)

- Potensielt raskere metode enn kløverblad
 - Dersom test kan utføres direkte på blodkulturflaske*
- Nytteverdi: bekrefte penicillin S på viktige isolater
- Ulemper:
 - Falske S: pga mutasjoner i primerområdet
- Usikker på om denne metoden er i bruk ennå ved norske laboratorier

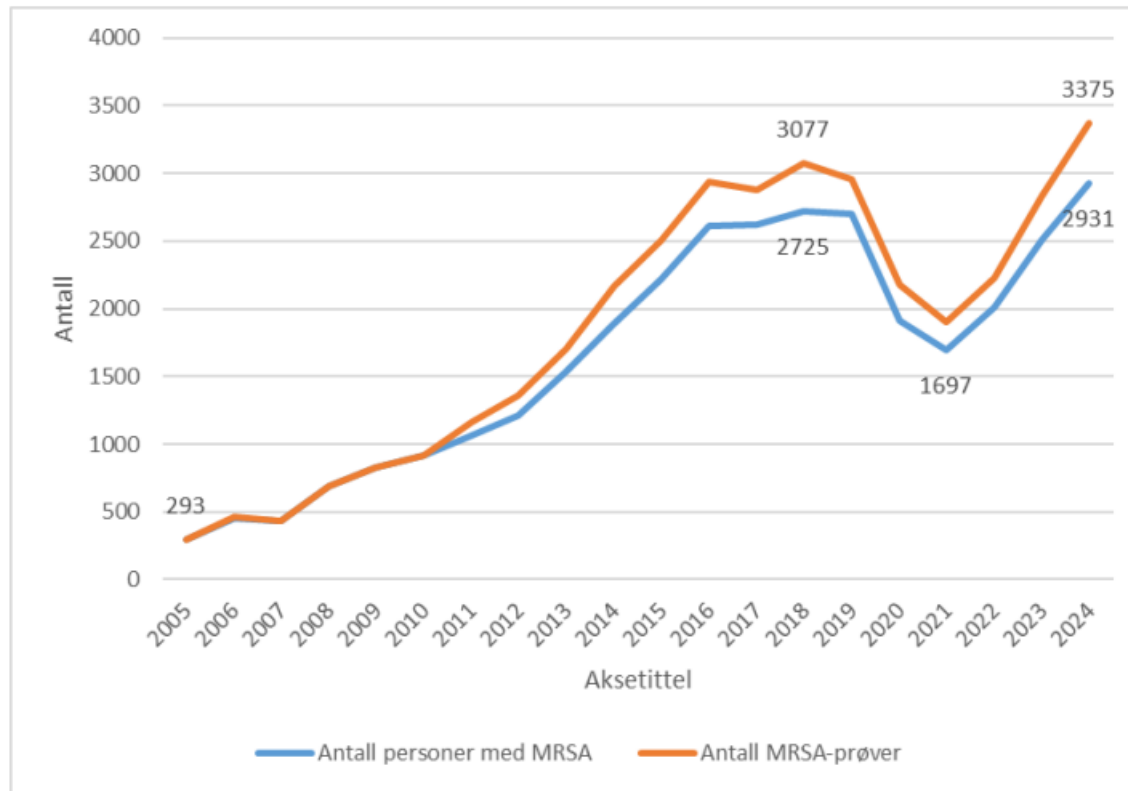
*Vang et al sept 2025: *Staphylococcus aureus* genotypic penicillin susceptibility using a *blaZ* qPCR directly on blood cultures shows high concordance with phenotype

Meticillinresistens

- Meticillinresistente *S. aureus* =MRSA
- Meticillinsensitive *S.aureus*=MSSA
- Meticillinresistens påvist i 1961
 - Meticillin senere erstattet av oxacillin, dikloxacillin, kloxacillin

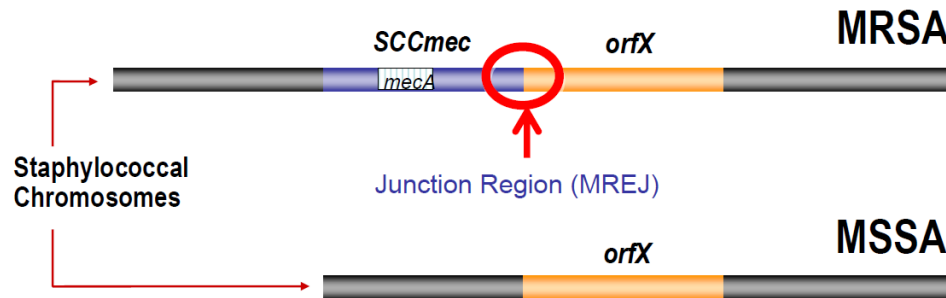


MRSA i Norge



Figur 1: Antall MRSA-prøver og antall personer med MRSA i perioden 2005-2024

Hva er forskjellen på MSSA og MRSA?



- MRSA=*S.aureus* +gen for meticillinresistens(*mecA/mecC*)

orfX: genområde med ukjent funksjon bortsett fra at det er bindingssted for SCCmec. Sitter kromosomalt

Hva er MRSA?

- *mecA* (*mecC*) koder for PBP2a (PBP2c)
 - Et endret penicillinbindende protein med lav affinitet for betalaktamantibiotika
 - Bakterienes celleveggsyntesen fortsetter
 - MRSA medfører resistens mot alle betalaktamantibiotika
 - Unntak: ceftarolin og ceftobiprol
- *mecA* (*mecC*) sitter i en kromosomkassett (SCC*mec*)
 - Kassetten kan inneholde andre resistensgener
 - f eks makrolider, klindamycin, TMS, tetracykliner, ciprofloxacin
 - Generelt mer resistens blant MRSA enn MSSA

NORM: *S. aureus* i blodkultur 2000-2024-

klarar vi å holde oss rundt 1% MRSA?

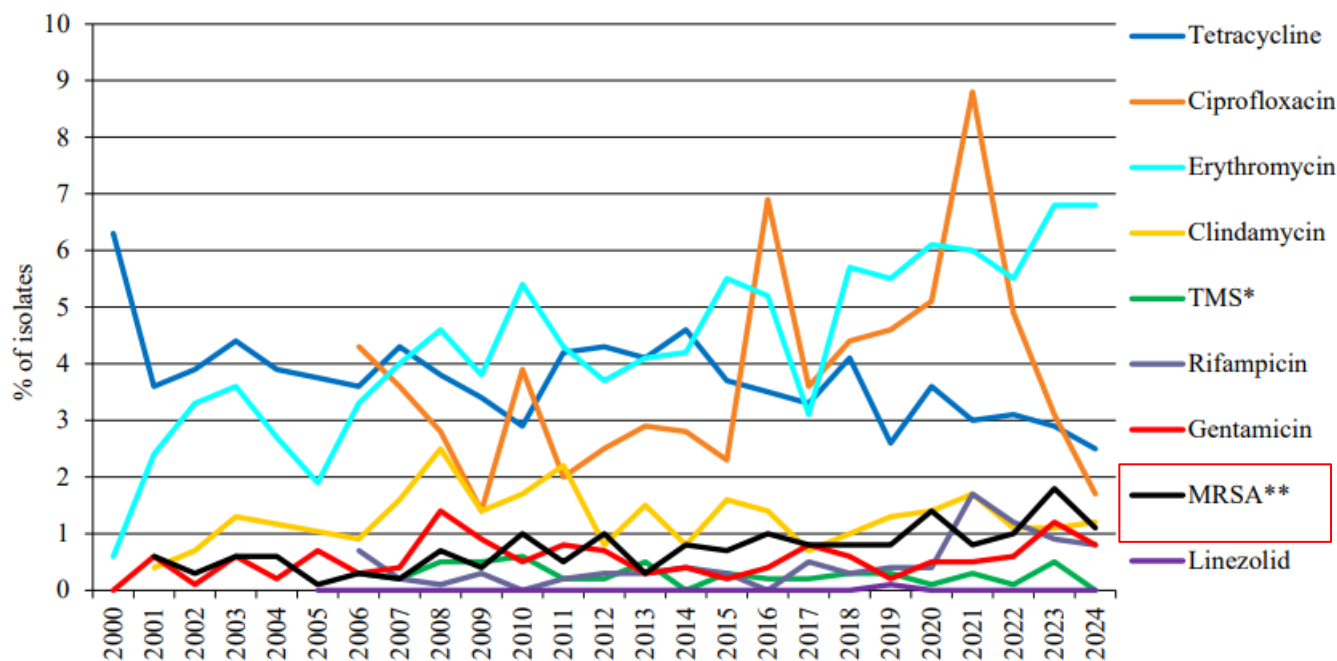
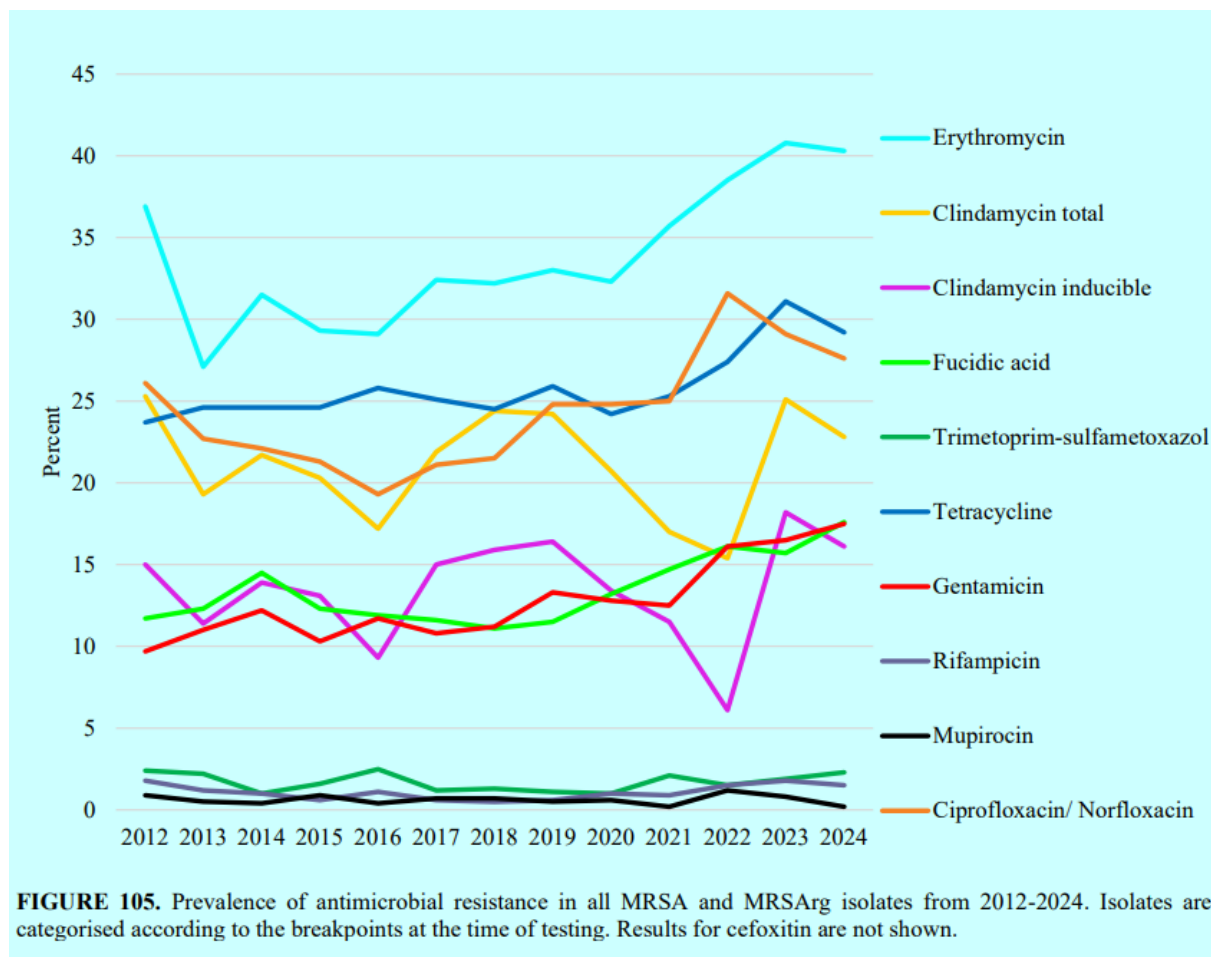


FIGURE 101. Prevalences of antimicrobial resistance among *Staphylococcus aureus* blood culture isolates 2000-2024. Doxycycline was replaced by tetracycline in 2006. Isolates are categorised according to the breakpoints at the time of analysis. *TMS=Trimethoprim-sulfamethoxazole. **MRSA=Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*.

MRSA-resistens 2012-2024 (infeksjoner og bærerskap)



Påvisning av meticillinresistens

- Rutineprøver
 - Resistenstesting med tanke på behandling av infeksjonen
 - Resistensovervåkning
- Screeningprøver
 - Utbrudd
 - Forhåndsundersøkelse etter MRSA- veilederen



Meticillinresistens i rutineprøver

- Cefoxitinlapp 30 µg på Muller Hinton agar. Romluft
- Vanlig avlesning mot mørk bakgrunn
 - men vær ekstra oppmerksom på kolonier inni sonen (disse skal tas hensyn til)
- *S.aureus*
 - S $\geq$ 22 mm
 - R < 22 mm
- Cefoxitin sonediameter korrelerer bra med forekomst av *mecA*-genet
- Pålitelig metode for *S. aureus*
- OBS OS-MRSA
 - *S.aureus* med cefoxitin S og positiv *mecA* finnes (sjelden)-skal behandles som MRSA
- Automatiske systemer bruker som regel en kombinasjon av cefoxitin og oxacillin MIC

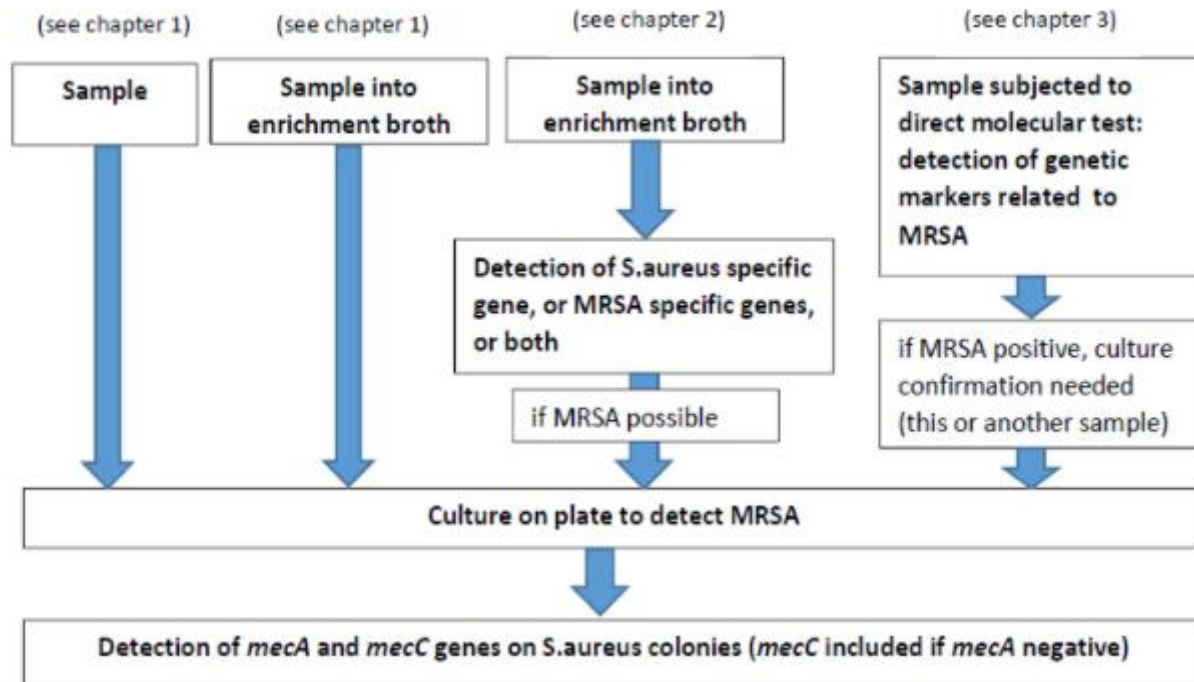
Konfirmasjon av MRSA

- Konfirmasjon med påvisning av *mecA*-genet + *S.aureus*-spesifikt gen (*nuc* eller *spa*)
 - *mecA* PCR
 - evt PBP2a agglutinasjon
- *mecC* PCR dersom cefoxitin R og negativ *mecA*
 - evt sende til ref.lab for avklaring
- Bekreftede meticillinresistente stammer rapporteres R for alle betalaktamer
 - Unntak: ceftarolin og ceftobiprole
- Meldeplikt til MSIS og sendeplikt til MRSA referanselaboratorium 😊
 - § 2-4a.(Innsendingsplikt for smittestoff og prøvemateriale)

MRSA screening

- Mange muligheter, ingen gullstandard
- Dyrkningsbasert eller molekylær deteksjon
 - Med eller uten anrikning først
 - Anrikning øker sensitivitet, men forlenger svartid
 - Ved molekylær deteksjon må man i tillegg dyrke fram isolatet for resistensbestemmelse og innsending til ref.lab
- Utfordringer uansett metode:
 - Mulighet for falske negative ved
 - Lav mengde MRSA
 - Nylig brukt antibiotika
 - Verken PCR eller dyrkning kan forventes å fange opp alle MRSA
 - Hvor avgjørende er det å fange opp flest mulig MRSA?
 - Dersom pasient på sårbar avdeling kreves det at lab tilstreber høyere sensitivitet
 - Blandingsflora, inkl. meticillinresistente KNS
 - Metodevalg blir ofte en avveining mellom ressursbruk, tid til prøvesvar, type avdeling etc

MRSA screening



Nyoppdaget MRSA

- Nominativt meldepliktig til MSIS
- Sendes referanselaboratoriet for MRSA ved St Olavs hospital
 - Konfirmasjon av MRSA
 - PVL-status
 - Genotyping
 - hovedsakelig spatyping, evt helgenomsekvensering
 - Stammebank
- Dersom ikke sendt inn siste 12 mndr, anbefales innsending på nytt
- Invasive stammer skal sendes inn uansett om det nylig er sendt annen stamme fra samme pasient



Nasjonalt referanselaboratorium
for MRSA

MRSA rekvisisjon

Nasjonalt referanselaboratorium for MRSA
Avdeling for Medisinsk Mikrobiologi
St. Olavs Hospital
Postboks 3250 Torgarden
7006 Trondheim



Nasjonalt referanselaboratorium
for MRSA

Isolater til Nasjonalt referanselaboratorium for MRSA

Rekvirent		Personnr.		☐ Kvinne ☐ Mann ☐ Gravid
Adresse		Etternavn		
Postnr.		Fornavn		
Poststed		Adresse		
Kontaktinfo		Postnr.		Poststed
Rekv.kode		☐ Innleggende sykehjem ☐ Innleggende sykehus		
Kopi		☐ Helseinstitusjon ☐ Poliklinisk		

Prøvetakingsdato		Eget prøvenummer	
Status	☐ Bærerskap ☐ Hals ☐ Nese ☐ Perineum ☐ Annet		
☐ Infeksjon	☐ Sår ☐ Overfladisk abscess ☐ Annet		
☐ Invasiv	☐ Blodkultur ☐ Dyp abscess ☐ Annet		
☐ Ukjent	☐ Leddvæske ☐ Pleuravæske ☐ Ascites ☐ Spinalvæske		

Mistenkt utbrudd	☐ Ja ☐ Nei ☐ Ukjent	Hvis ja, spesifiser hvor	
Helsearbeider	☐ Ja ☐ Nei ☐ Ukjent	Hvis ja, spesifiser hvor	
Tilknytning til dyrehold	☐ Ja ☐ Nei ☐ Ukjent	Hvis ja, spesifiser hvor	
Reise/Import	☐ Ja ☐ Nei ☐ Ukjent	Hvis ja, spesifiser hvor	
Kommentar			

Dato/signatur

Eget prøvenummer:

Rekvirentkode:

Resistensbestemmelse:

Cefoksitin (mm)		☐ Induserbar klindamycinresistens
Erytromycin (mm)		
Klindamycin (mm)		
Fusidin (mm)		
Trimetoprim-Sulfa (mm)		
Tetrasyklin (mm)		
Ceftarolin (mm)		
Gentamycin (mm)		
Rifampicin (mm)		
Mupirocin (mm)		
Ciprofloksacin (mm)		
Linezolid (mm)		
Vancomycin (MIC, mg/L)		

Supplerende antibiotikum:

Type antibiotikum	(mm)	
Type antibiotikum	(mm)	
Type antibiotikum	(MIC, mg/L)	
Type antibiotikum	(MIC, mg/L)	

Dato/signatur

Tilbakestill skjema

Utskrift

Linezolid

- Viktig **reservemiddel** ved infeksjoner med grampositive mikrober
- Første gang påvist linezolidresistens i MRSA og MSSA i Norge i 2016
- Også påvist linezolidresistens i enterokokker og koagulasenegative stafylokokker
 - Plasmidmediert overførbart resistens: *cfr*, *optrA* og *poxA*-gener
 - Mutasjonsbasert resistens
- Ved bekreftet mistanke om linezolidresistens uansett hvilken stafylokokk-species ønsker vi at isolatet sendes til MRSA referanselaboratorium



Resistens linezolid

- Lappediffusjon 10 µg
 - S≥21 mm
 - R<21 mm
- OBS endel isolater ligger rundt brytningspunktet
- Les av resistens mot mørk bakgrunn som for andre MH-skåler (tidligere anbefalt å holde opp mot lyset, men det gjør ingen stor forskjell ifølge EDL-EUCAST Development Laboratory)



S. aureus
Linezolid

Linezolidrestens i Norge

- Foreløpig bare få tilfeller av MSSA og MRSA
- Men antall KNS (og ikke minst enterokoker) med linezolidresistens er økende
- Meldeplikt til MSIS

Linezolidresistente stafylokokker (LRS) – smittebærertilstand eller infeksjoner

Kriterier for melding er påvisning av *Staphylococcus spp.* med linezolid MIC > 4 mg/l og/eller isolater med påvist overførbart linezolidresistensgen uavhengig av linezolid MIC.

Kilder



- <http://www.nordicast.org/>
 - Brytningspunkttabell
 - Metodedokumenter for deteksjon av meticillinresistens og MRSA screening
- <http://www.eucast.org/>
 - Reading guide 2.januar 2023
- <https://stolav.no/fag-og-forskning/lab/nasjonalt-referanselaboratorium-mrsa>
- <https://www.vetinst.no/overvaking/antibiotikaresistens-norm-vet>
- Skov et al 2021: Evaluation of methods for detection of β -lactamase production in MSSA
- Vang et al sept 2025: *Staphylococcus aureus* genotypic penicillin susceptibility using a *blaZ* qPCR directly on blood cultures shows high concordance with phenotype