

ÅRSRAPPORT 2021



Nasjonalt referanselaboratorium
for MRSA

Innholdsfortegnelse

Generell informasjon	2
MRSA referansegruppe	3
Metoder	3
Spatyping	3
Helgenomsekvensering	4
Antibiotikaresistens	4
Kvalitetskontroll	4
Resultater	5
Mottatte MRSA-stammer	5
Spatyping	6
Klonal kompleks	7
Helgenomsekvensering	7
Antibiotikaresistens	7
Aktiviteter 2021	8

Generell informasjon

St. Olavs hospital fikk tildelt referansefunksjon for meticillinresistente gule stafylokokker (MRSA) i 2005. Oppgavene til referanselaboratoriene er beskrevet i MSIS-forskriften §2-4 og rundskriv I-5/2013 fra Helse- og omsorgsdepartementet, og omfatter referansediagnostikk, innsamling av bakteriestammer, vitenskapelig råd og støtte, samarbeid og forskning, overvåkning, beredskap og respons ved utbrudd av smittsomme sykdommer.

En viktig del av arbeidet består i å samle inn alle nye MRSA-isolater i samarbeid med landets medisinske laboratorier, samt genotyping av disse stammene. Pga. økende antall mottatte stammer ble selektiv genotyping etter bestemte kriterier innført fra 2018. Referanselaboratoriet mottar resistensdata fra innsenderlaboratoriene.

Referanselaboratoriet mottar også enkelte andre stafylokkisolater ved spesielle problemstillinger, f. eks. meticillinresistente *Staphylococcus argenteus* og *Staphylococcus lugdunensis*, og isolater med spørsmål om uvanlig resistens. Vi har også bidratt med utbruddsoppløring ved utbrudd av andre stafylokker enn MRSA.

Referanselaboratoriet sender data med Folkehelseinstituttet (Meldingssystem for smittsomme sykdommer (MSIS)), Norsk overvåkingssystem for antibiotikaresistens hos mikrober (NORM) og Veterinærinstituttet. Det er startet en prosess for å få bedre informasjonsflyt mellom MRSA referanselaboratorium og MSIS-databasen, som kan bidra til kvalitetssikring og gi raskere og bedre overvåkning av MRSA i Norge.

Alle mottatte MRSA arkiveres i en stammebank, etablert i henhold til mandat gitt fra Helse- og omsorgsdepartementet i forbindelse med tildeling av referansefunksjonen i 2005, og også beskrevet i MSIS-forskriften paragraf 2-4. Stammebanken er komplett fra og med 2008.

Referanselaboratoriet består per 31.12.21 av følgende personer:

Spesialbioingeniør Torunn Gresdal Rønning, forsker Christina Gabrielsen Ås, fagansvarlig bioingeniør Anette Skjærvik (i permisjon), vikarierende fagansvarlig bioingeniør Kirsti Sandnes Sæbø, bioingeniør Ernest Wilson, bioingeniør Jorunn Vikaunet (50%), samt overlege Hege Enger. Frode Width Gran og Lene Christin Olsen bidrar med tallgrunnlag og statistikk.

MRSA referansegruppe

Nasjonal referansegruppe for MRSA ble opprettet etter henvendelse fra referanselaboratoriet i 2013. Referansegruppen for MRSA består av medlemmer fra de ulike helseforetakene i Norge, i tillegg til Folkehelseinstituttet og Veterinærinstituttet. Medlemmene i referansegruppen oppnevnes hvert fjerde år, og har som mandat å sikre forankring i fagmiljøene og lik tilgang til referansetjenesten, bidra til at referanselaboratoriet drives i henhold til målsetningene, godkjenne årlig rapportering for innsending til Helsedirektoratet, samt danne en plattform for forskningssamarbeid på tvers av helseregionene. Referansegruppen møtes en gang i året.

Medlemmer per 31.12.21:

Leder Silje Bakken Jørgensen (Helse Sør-Øst RHF, Akershus Universitetssykehus), Karina Olsen (Helse Nord RHF, Universitetssykehuset i Nord-Norge), Kyriakos Zaragkoulias (Helse Midt-Norge RHF, Sykehuset Levanger), Ingerid Skarstein (Helse Vest RHF, Haukeland universitetssykehus), Marianne Sunde (Veterinærinstituttet) og Petter Elstrøm (Folkehelseinstituttet).

Metoder

Alle tilsendte isolater bekreftes som MRSA med PCR for *mecA* og *spa*-genet. I tillegg kartlegges tilstedeværelse av PVL (Panton-Valentine Leukocidin) med PCR. Isolater som er negative for *mecA* genet undersøkes for tilstedeværelse av *mecC* genet med PCR.

Spatyping

Spatyping med Sanger-sekvensering utføres på isolater som oppfyller kriteriene for genotyping.

Følgende stammer er prioritert til *spa*-typing:

- Alle infeksjoner
- Invasive isolater (blodkultur, spinalvæske, dype abcesser m. fl.)
- Isolater fra inneliggende pasienter på sykehus og sykehjem

- Isolater fra helsearbeidere
- Isolater fra gravide og nyfødte (under 3 mnd. gamle)
- Stammer relatert til utbrudd
- Isolater fra personer med tilknytning til dyrehold
 - Bosted på gård eller yrkesmessig dyretilknytning (bonde, røkter, veterinær, arbeid i dyretransport eller på slakteri)
 - Tidligere påvist LA-MRSA
- Stammer med uttalt multiresistens eller spesielle resistensprofiler (f. eks. resistens mot linezolid)
- I tillegg vil det utføres genotyping av ca. 350 tilfeldig utvalgte stammer per år, de ca. 30 første per måned.

Helgenomsekvensering

Følgende stammer prioriteres til helgenomsekvensering:

- Stammer knyttet til utbrudd/mistenkt smitte
- Invasive infeksjoner (blodkultur, spinalvæske, m. fl.)
- Stammer med spesiell/sjelden resistensprofil/fenotype/genotype (f. eks. resistens/nedsatt følsomhet mot mupirocin, daptomycin, linezolid eller vankomycin, multiresistens, OS-MRSA, *mecC*, BORSA)
- Isolater fra nyfødte (under 3 mnd. gamle)
- LA-MRSA
- MRSA med ny spatype
- Stammer hvor annen typingsmetodikk ikke gir tilstrekkelig svar
- *mecA*-positive *S. argenteus* som oppfyller overnevnte kriterier for genotyping
- Utvalgte stammer av spesiell interesse eller etter avtale

Antibiotikaresistens

Fra 2016 har innsenderlaboratoriene sendt inn resistensdata til referanselaboratoriet.

Følgende utvalg av antibiotika inngår i panelet som alle stammer testes for følsomhet mot: cefoxitin, erytromycin, klindamycin, gentamycin, trimetoprim-sulfa, tetracyclin, fucidin, mupirocin, ciprofloxacin/norfloxacin, rifampicin, og linezolid (oppsett i henhold til EUCAST lappediffusjonsmetode), samt MIC-test for vankomycin med gradientmetodikk eller evt. buljongfortynning. Referanselaboratoriet utfører supplerende resistenstesting ved spørsmål om multiresistens (≥ 5 antibiotikagrupper vurdert som R inkludert cefoxitin), linezolidresistens, og evt. nedsatt følsomhet for vankomycin. Det utføres også resistenstesting etter visse kriterier når det mangler resistensdata fra innsenderlaboratoriene.

Supplerende analyser kan utføres etter avtale, som *mupA*-PCR og påvisning av gener for overførbart linezolidresistens (*cfp*, *optrA* og *poxTA*).

Test for GRD (Glycopeptide Resistance Detection) utføres på blodkulturer og andre invasive isolater.

Kvalitetskontroll

Avdeling for Medisinsk Mikrobiologi ble i 2011 akkreditert av Norsk Akkreditering, og referanselaboratoriet inngår i denne akkrediteringen. Metodebeskrivelser er utarbeidet i avdelingens kvalitetssystem (EQS) og referanselaboratoriet deltar årlig i Quality Control for Molecular Diagnostics (QCMD) for *spa*-typing.

Resultater

Mottatte MRSA-stammer

Referanselaboratoriet mottok i 2021 totalt 1899 humane MRSA-isolater fra 1697 unike pasienter. Fram til 2016 var det en årlig økning i totalt antall mottatte stammer, mens det har vært en utflating fra 2016 etterfulgt av en nedgang i 2020. I 2021 har nedgangen i antall mottatte prøver fra 2020 fortsatt (Figur 1). Prøvene er sendt inn fra alle de 23 mikrobiologiske laboratoriene i Norge, fordelt på fylke som vist i tabell 1.

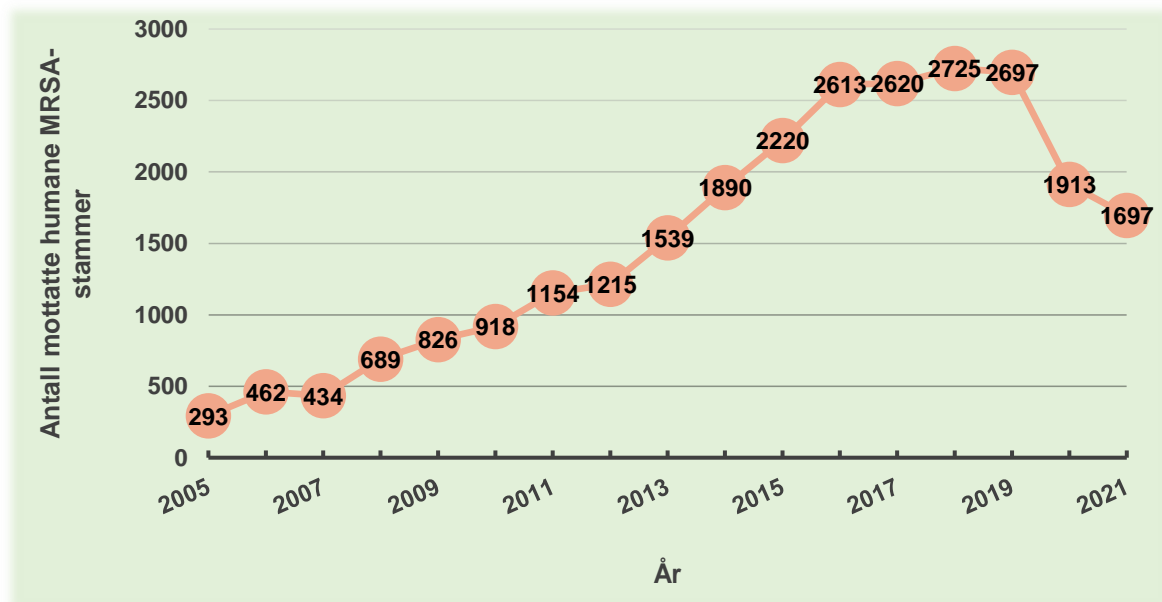
72% av innsendte prøver var PVL-negative og 28 % var PVL- positive.

LA-MRSA, definert som spa typer assosiert med CC398, ble påvist hos 32 humane stammer (spa-type t034 n=22, t011 n=3, t571 n=3, t2582 n=2, t3275 n=1 og t8616 n=1). Av disse var 11 isolater (34,4%) PVL negative (t034 n=5, t571 n=3, t2582 n=2, t011 n=1).

I tillegg mottok MRSA referanselaboratorium 2 veterinærstammer, tilhørende CC22 (t223, hund) og CC1 (t127, hund).

mecC ble påvist i to av de humane stammene tilsendt i 2021. Disse to stammene tilhørte *spa*-type t6292 (CC425) og t6220 (CC130).

I 2021 mottatt MRSA referanselaboratorium i tillegg 27 *mecA*-positive *S. argenteus*-isolater og 20 *S. lugdunensis*-isolater, av disse var 19 *mecA*-positive, og 1 var *mecA* negativ. For *S. lugdunensis* var 10 isolater cefoxitinresistente og 10 cefoxitinfølsomme. Brytningspunktet for *S. lugdunensis* ble justert i januar 2022 for å få bedre samsvar mellom cefoxitinresistens og tilstedeværelse av *mecA*.



Figur 1: Mottatte stammer pr individ 2005-2021

Tabell 1: Humane stammer fordelt pr fylke

Fylke	Antall prøver
Viken	522
Oslo	419
Innlandet	131
Vestfold og Telemark	104
Agder	104
Rogaland	167
Vestland	135
Møre og Romsdal	50
Trøndelag	150
Nordland	56
Troms og Finnmark	61
Totalt	1899

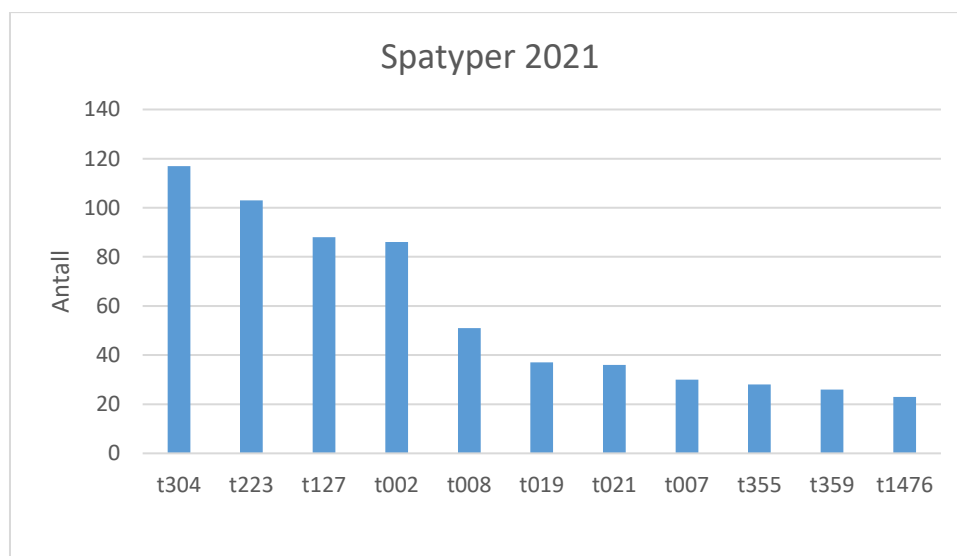
Spatyping

1325 av 1899 (70 %) isolater ble spatypet. Det ble påvist 240 ulike spatyper blant de humane stammene i 2021. I 2020 ble det påvist 264 ulike typer, og i 2019 319 ulike spatyper.

205 spatyper ble funnet <5 ganger (15,5 % av totalt genotypedede stammer) Dette er et høyere tall enn tidligere (12,5 % i 2020, 6,8 % i 2019).

Av totalt 1901 (inkludert 2 veterinærstammer) mottatte prøver ble 921 prioritert for spatyping etter overnevnte kriterier, 344 tilfeldig utvalgte stammer ble spatypet, mens 60 ble spatypet på forespørsel (flere enn et vanlig år). De fem hyppigst påviste spatypene var t304 (8.8 %), t223 (7.8 %), t127 (6,6 %), t002 (6,5 %) og t008 (3,8 %) blant alle spa-typede isolater.

Figur 2 viser oversikt over de ti vanligste spatypene som ble påvist i 2021. De 6 hyppigst påviste spatypene har vært de samme i flere år, men rekkefølgen varierer. Spatyper tilknyttet utbrudd vil kunne ha høy andel enkelte år. I 2020 var det ett større utbrudd med spatype t002, og i 2021 hadde vi ett omfattende utbrudd med t223. Spatypene t304 og t 223 har økt de siste årene.



Figur 2: De ti vanligste MRSA *spa*-typer påvist i 2021.

På grunn av et lavere antall mottatte stammer de siste 2 år, ble det på slutten av 2021 bestemt at vi fra januar 2022 igjen genotyper alle mottatte isolater.

Klonal kompleks

Tabell 2: De vanligste klonal kompleks (CC) påvist i 2021

CC	spa-typer gruppert i CC *	Andel isolater	% av isolater genotypet
CC5	t002 (86), t688 (23) t311 (19), t105 (14), t010 (9)	181	13,7 %
CC22	t223 (103), t005(30), t309 (6), t852 (5), t790 (5)	179	13,5 %
CC1	t127 (88), t386 (14), t657 (14), t1839 (4), t114 (4)	154	11,6 %
CC6	t304 (117), t701 (15), t9736 (7) t13429 (5), t648 (5)	145	10,9 %
CC30	t019 (37), t021 (36), t363 (23), t665 (5), t026 (2)	117	8,8 %
CC8	t008 (51), t1476 (23), t024 (5), t4549 (5), t064 (4)	106	8,0 %
CC88	t690 (13), t1339(7), t448 (5), t2526 (5), t786 (4)	63	4,8 %
CC97	t359 (26),t267 (8) ,t11822 (3), t1200 (3)	45	3,4 %
CC152	t355 (28), t4019 (4), t5691 (3), t4090 (2)	37	2,8 %
CC672	t3841 (21), t1309 (5), t8021 (3), t315 (2)	31	2,3 %
CC45	t026 (8), t015 (5), t330 (4), t050 (3), t132 (3)	29	2,2 %
CC398	t034 (22), t011 (3),t571 (3), t2582 (2), t8616 (1)	29	2,2 %

Helgenomsekvensering

Helgenomsekvensering (WGS, Illumina-metodikk) har blitt utført på utvalgte stammer som angitt av prioriteringskriterier og utgjør totalt 379 stammer for 2021. Dette inkluderer helgenomsekvensering av hovedsakelig *S. aureus* (n=280), i tillegg til noen få andre stafylokokker som *S. lugdunensis* (n=28), *S. argenteus* (n=21), *S. sanguinis* (n=4) og *S. epidermidis* (n=3). Av totalen var 32,5% relatert til identifikasjon/typing, 31,7% til utbrudd/smitteoppsporing og 11,4% til forskningsprosjekter. Resten av stammene fordeles på kategori som angitt i tabell 3.

Tabell 3: Årsaker til helgenomsekvensering

Kategori	Antall	Andel
Identifikasjon og typing	123	32,5 %
Utbrudd og smittesporing	120	31,7 %
Forskningsprosjekter	43	11,3 %
Overvåking: LA-MRSA	25	6,6 %
Karakterisering av resistens og virulens	20	5,3 %
Overvåking: Blodkultur og invasive	26	6,9 %
Overvåking: MRSL	11	2,9 %
Overvåking: Multiresistente MRSA	9	2,4 %
Overvåking: Nyfødte	2	0,5 %
Total	379	100,0 %

Antibiotikaresistens

Oversikten over antimikrobiell resistens for alle humane MRSA-isolater mottatt av referanselaboratoriet i 2021 (Tabell 4) viser et tilsvarende mønster som tidligere år, hvor høyest

andel av resistens ble funnet for erytromycin (32,3%), etterfulgt av ciprofloxacin (24,8%) og tetracyclin (24,2%).

Tabell 4: Oversikt over følsomhet for utvalgte antibiotika for alle mottatte humane MRSA-isolater (n=1895) i 2021. Fordeling (%) mellom kategoriene sensitiv (S), følsom ved økt eksponering (I) og resistent (R) er basert på innsendte mm-soner.

Antibiotika	Brytningspunkt	Andel av isolater (%)			Antall rapporterte
		Sensitiv (S)	Følsom, økt eksponering(I)	Resistent (R)	
Erytromycin	S≥21, R<18	64	0,3	35,7	1895
Klindamycin*	S≥22, R<19	92,6	1,9	5,5	1869
Fucidin	R<24	85,3	-	14,7	1895
Trimetoprim-sulfa	S≥17, R<14	96,2	1,7	2,1	1899
Tetracyclin	S≥22, R<19	74,3	0,4	25,3	1885
Gentamycin	R<18	87,5		12,5	1895
Rifampicin	S≥26, R<23	98,5	0,6	0,9	1899
Mupirucin	S≥30, R<18	95,2	4,6	0,2	1869
Ciprofloxacin	R<21		75	25	1824
Linezolid	R<21	100			1891
Vankomycin	R>2mg/L	100			1881
Induserbar klindamycinresistens				11,5	1869

* Viser konstitutiv klindamycinresistens, ikke total

Aktiviteter 2021

Publikasjoner

- Enger H, Larssen KW, Damås ES, Aamot HV, Blomfeldt A, Elstrøm P, Ås CG. A tale of two STs: molecular and clinical epidemiology of MRSA t304 in Norway 2008-2016. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2022 Feb;41(2):209-218. doi: 10.1007/s10096-021-04353-9. Epub 2021 Oct 23. PMID: 34687359; PMCID: PMC8770451.
- Petersen A, Larssen KW, Gran FW, Enger H, Hæggman S, Mäkitalo B, Haraldsson G, Lindholm L, Vuopio J, Henius AE, Nielsen J, Larsen AR. Increasing Incidences and Clonal Diversity of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in the Nordic Countries - Results From the Nordic MRSA Surveillance. *Front Microbiol*. 2021 Apr 30;12:668900. doi: 10.3389/fmicb.2021.668900. PMID: 33995333; PMCID: PMC8119743.

Deltagelse på kurs/møter

- Webinar: ISAC MRSA Surveillance Survey. 10.03.21. TGR, CGÅ, HE
- Webinar: Nye retningslinjer for behandling av osteomyelitt og proteseinfeksjoner. 18.03.21. HE
- International Conference on Clinical Metagenomics 2021. 28.10.21. CGÅ
- Genomic population structures of microbial pathogens. 28.09.21. TGR, CGÅ

Arrangering av kurs/møter

MRSA referansegruppemøte 23.11.21 (digitalt). Alle

Bidrag til eksterne foredrag/kurs

- Presisjonsmedisin innen medisinsk mikrobiologi. 29.10.21. Mikrokonferansen, Trondheim. CGÅ
- *S. aureus* - the bacterium. MOL3023. Kurs i molekylær mikrobiologi. 13.09.21. CGÅ
- Bioinformatikk og antibiotikaresistens hos MRSA. NITO-kurs. 23.09.21. TGR

Studier/prosjekter

- MRSA t304. Artikkel publisert 2021. MRSA ref.lab., FHI, AHUS. HE, CGÅ
- *S. argenteus*. TGR, CGÅ, HE
- Annerledeslandet Norge: Overvåkning av MRSA gjennom 10 år. TGR, CGÅ, HE
- MRSA t127 utbrudd og oppfølging. UNN, UiT, MRSA ref.lab. CGÅ, KWL
- Multiresistente MRSA i Norge. MRSA ref.lab. TGR, CGÅ, HE
- Utbrudd av meticillinresistente *S. lugdunensis* ved nyfødt intensiv, SUS. SUS, MRSA ref.lab. TGR, CGÅ, HE
- Etablering og validering av SARS-Cov2 helgenomsekvensering * 2 (ny etablering/forbedring av metode etter Deltavariant høst 2021). FOU og MRSA ref.lab. TGR, CGÅ

Bacheloroppgaver:

- Metodeutvikling og validering av multiplex real-time PCR for deteksjon av meticillinresistente *Staphylococcus argenteus*. Vår 2021. Benedikte Erlandsen og Helle Holte. TGR, CGÅ, HE
- Metodevalidering for påvisning av biofilmproduksjon hos *Staphylococcus aureus*. Shenhet Zekgeb Ginbot & Sigurd Martinussen Conradsen. Vår 2021. CGÅ

Veiledning PhD

- Toward precision medicine in *Staphylococcus aureus* sepsis: influence of bacterial characteristics on clinical outcome, metastatic infections and relapse. PhD kandidat Ingvild Haugan. Medveileder CGÅ.

Metoder/instrumenter

- Validering av Illumina DNA prep protokoll for NGS. Høst 2021
- Validering av *S. argenteus*-sekvensering, nye 'spa-primere' tilpasset *S. argenteus*. Høst 2021
- Validering av *mupA*-PCR. Vår 2021
- I 2021 har personale ved MRSA referanselaboratorium vært involvert i etablering og gjennomføring av helgenomsekvensering av coronaprøver.

Søknader:

- K.G. Jebsen Centre for Sepsis Research. Geminisenter for Sepsisforskning. CGÅ

- DPIA: Annerledeslandet Norge: Overvåkning av MRSA gjennom 10 år. TGR, CGÅ, HE
- NFR: Towards precision medicine: Identifying early biomarkers for *S. aureus* bacteremia and sepsis. Geminisenter for Sepsisforskning. CGÅ
- REK: Multiresistente MRSA i Norge. TGR, CGÅ, HE
- REK: Methicillinresistente *S. argenteus* i Norge. MRSA ref.lab. TGR, CGÅ, HE