

# ÅRSRAPPORT 2022



## Innholdsfortegnelse

<b>Generell informasjon</b> .....	3
MRSA referansegruppe .....	4
<b>Metoder</b> .....	5
PCR for konfirmasjon av MRSA .....	5
<i>Spa</i> -typing og klonalkompleks (CC) .....	5
Helgenomsekvensering .....	5
Antibiotikaresistens.....	6
Kvalitetskontroll .....	6
Ringtester .....	6
<b>Resultater</b> .....	7
Mottatte MRSA-stammer.....	7
<i>Spa</i> -typing.....	9
Klonalkomplekser .....	10
Helgenomsekvensering .....	11
Antibiotikaresistens.....	13
Aktiviteter 2022.....	14

## 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.

En viktig del av arbeidet består i å samle inn alle nye MRSA-isolater i samarbeid med landets medisinske laboratorier, samt å utføre genotyping av disse stammene. Pga. økning i antall mottatte stammer ble det gjort selektiv genotyping etter bestemte kriterier i perioden 2018-2021, men fra 1/1-2022 har vi igjen genotypet alle mottatte stammer. Alle mottatte MRSA-stammer arkiveres i en stammebank, som ble komplett fra og med 2008. Siden 2016 har referanselaboratoriet mottatt resistensdata fra innsenderlaboratoriene.

Referanselaboratoriet sine oppgaver omfatter også referansediagnostikk, vitenskapelig råd og støtte til andre laboratorier og fagmiljøer, samarbeid og forskning, overvåkning, beredskap og respons ved utbrudd av smittsomme sykdommer. Referanselaboratoriet sender data til Meldingssystem for smittsomme sykdommer (MSIS), Norsk overvåkingssystem for antibiotikaresistens hos mikrober (NORM) og Veterinærinstituttet. Det representerer stadig et betydelig problem i utøvelsen av referanselaboratoriets pålagte oppgaver at vi ikke kan få samkjørt og kvalitetssikret våre data med data fra MSIS. Det er startet en prosess for å få bedre informasjonsflyt mellom MRSA referanselaboratorium og MSIS-databasen, som er avgjørende for bedre overvåkning av MRSA i Norge, samt for kvalitetssikring.

I tillegg til MRSA mottar også referanselaboratoriet enkelte andre stafylokkisolater, f. eks. meticillinresistente *Staphylococcus argenteus* (MRSArg) og *Staphylococcus lugdunensis* (MRSL), og stafylokkisolater med spørsmål om uvanlig resistens. Vi blir også spurt om utbruddsoppløring ved utbrudd av andre stafylokker enn MRSA.

Referanselaboratoriet består per 31.12.22 av følgende personer:

- Overlege Hege Enger, HE
- Spesialbioingeniør Torunn Gresdal Rønning, TGR
- Forsker Christina Gabrielsen Ås, CGÅ
- Fagansvarlig bioingeniør Anette Skjærvik (i permisjon) AS
- Vikarierende fagansvarlig bioingeniør Kirsti Sandnes Sæbø, KSS
- Bioingeniør Ernest Wilson, EW
- Prosjektleder Frode Width Gran (FWG) og bioinformatiker Lene Christin Olsen (LCO) bidrar med uthenting og bearbeiding av data

## MRSA referansegruppe

Nasjonal referansegruppe for MRSA ble opprettet etter henvendelse fra referanselaboratoriet i 2013. Referansegruppen for MRSA består av en fagperson fra hvert regionale helseforetak i Norge, samt én representant fra Folkehelseinstituttet og én representant fra 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 årlig.

Medlemmer i MRSA referansegruppe per 31.12.22:

- 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)
- Petter Elstrøm ble i løpet av 2022 erstattet av Mari Molvik (Folkehelseinstituttet)

## Metoder

Under følger en oversikt over de metodene som benyttes ved MRSA referanselaboratorium, og for hvilket utvalg av stammer de ulike metodene ble utført i 2022.

### PCR for konfirmasjon av MRSA

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

### *Spa*-typing og klonalkompleks (CC)

*Spa*-typing med Sanger-sekvensering ble fra 01.01.2022 utført på alle tilsendte MRSA- og MRSA<sub>arg</sub>-isolater. *Spa*-typing brukes i overvåkning og som første ledd i utbruddsoppløring av MRSA. *Spa*-typer kan grupperes i klonalkomplekser (CC) og gir informasjon om slektskap mellom *spa*-typer.

### Helgenomsekvensering

Helgenomsekvensering (WGS) benyttes for utbruddsoppløring og overvåkning av prioriterte grupper, eller ved behov for utvidet karakterisering av stammer. Følgende stammer ble i 2022 prioritert til helgenomsekvensering:

- Stammer knyttet til utbrudd/mistenkt smitte
- Stammer fra 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)
- Stammer fra nyfødte (under 3 mndr)
- Stammer fra gravide
- LA-MRSA
- MRSA med ny *spa*-type
- 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

For alle helgenomsekvenserte MRSA-stammer blir det utført kjernegenom MLST med Ridom SeqSphere+.

## Antibiotikaresistens

For overvåkning av antibiotikaresistens benytter MRSA referanselaboratorium data fra fenotypisk resistenstesting utført av innsenderlaboratoriene. Brytningspunkt for resistensdata er basert på NordicAST brytningspunktstabell fra 2022.

Følgende utvalg av antibiotika inngår i panelet som alle stammer testes for følsomhet mot:

- Cefoxitin
- Erytromycin
- Klindamycin
- Gentamycin
- Trimetoprim-sulfa
- Tetracyclin
- Fucidin
- Mupirocin
- Ciprofloksacin/norfloksacin
- Rifampicin
- Linezolid
- Vankomycin

Referanselaboratoriet utfører supplerende resistenstesting ved multiresistens ( $\geq 5$  antibiotikagrupper vurdert som R, inkludert cefoxitin), linezolidresistens, mupirocinresistens, og ved evt. nedsatt følsomhet for vankomycin. Det utføres også resistenstesting etter visse kriterier når det mangler resistensdata fra innsenderlaboratoriene. Screeningstest for glykopeptid heteroresistens, GRD test (Glycopeptide Resistance Detection), utføres på blodkulturer og andre invasive isolater.

Supplerende analyser for påvisning av spesifikke resistensgener ved PCR utføres ved behov:

- Påvisning av gen for overførbart mupirocinresistens (*mupA*-PCR)
- Påvisning av gener for overførbart linezolidresistens (*cfr*, *optrA* og *poxtA*)

## 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).

## Ringtester

Referanselaboratoriet deltar i ringtester for ekstern kvalitetskontroll av ulike metoder.

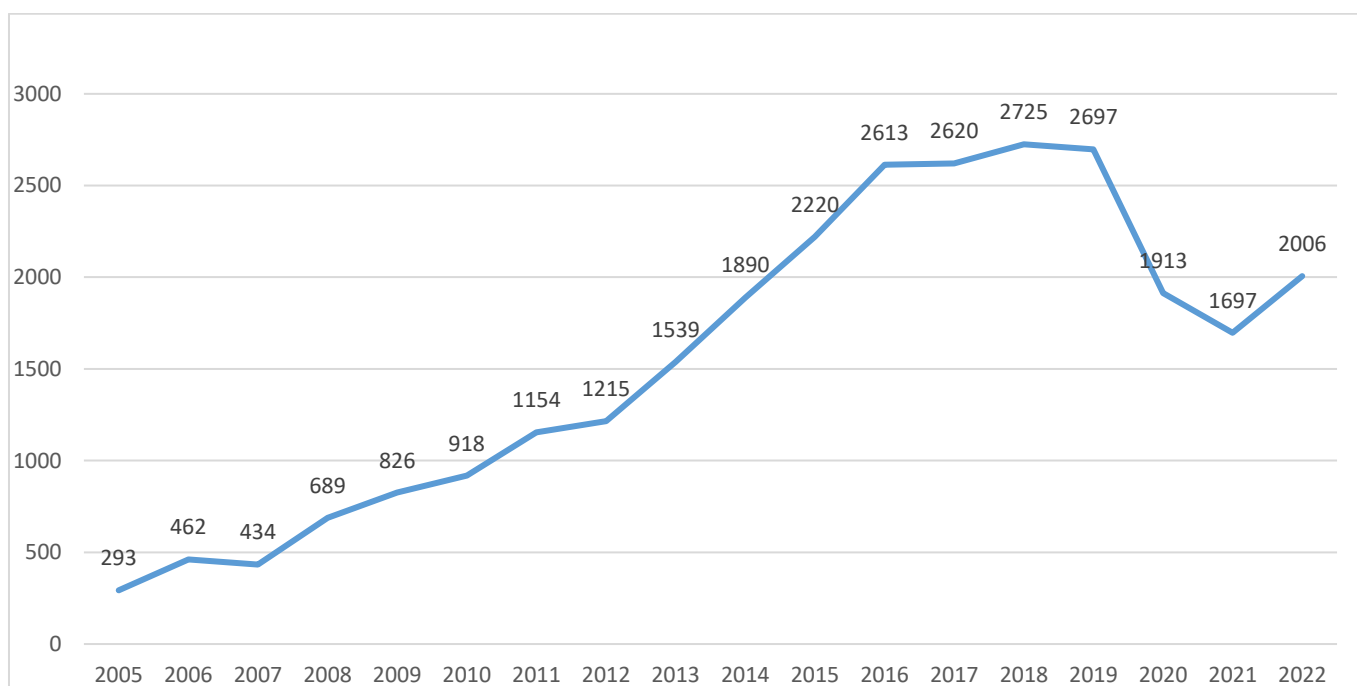
- QCMD (Quality Control for Molecular Diagnostics (QCMD)). **spa-typing**
- ESGS (ESCMID Study Group for Staphylococci and staphylococcal diseases). Seventh External Quality Assessment (EQA). **Identifikasjon, resistens, virulens og molekylær typing**
- Scandinavian ring trial for WGS proficiency. **WGS**

## Resultater

### Mottatte MRSA-stammer

Referanselaboratoriet mottok i 2022 totalt 2232 humane MRSA-isolater fra 2006 unike personer. Fram til 2016 var det en årlig økning i totalt antall mottatte MRSA stammer. Etter dette ble det observert en utflating, etterfulgt av en betydelig nedgang i 2020 og 2021 sammenfallende med SARS-CoV2-pandemien. I 2022 har antall mottatte prøver økt i forhold til 2021 (Figur 1). Det ble sendt inn prøver fra alle de 23 mikrobiologiske laboratoriene i Norge. Fylkesvis fordeling av mottatte prøver vises i tabell 1. Oslo skilte seg ut med høy insidens, og Nordland med lav insidens. Når det gjelder kjønn var det totalt sett tilnærmet lik fordeling, med 51 % av stammene fra kvinner og 49 % fra menn, men det var kjønnsforskjeller i noen av aldersgruppene, med blant annet overvekt av kvinner i alderen 20-40 år (Figur 2). Av alle innsendte stammer var 68 % PVL-negative og 32 % PVL- positive. Antallet humane *mecA*-positive stammer var 2229 (99,9 %), og antallet *mecC*-positive stammer var tre (0,1 %).

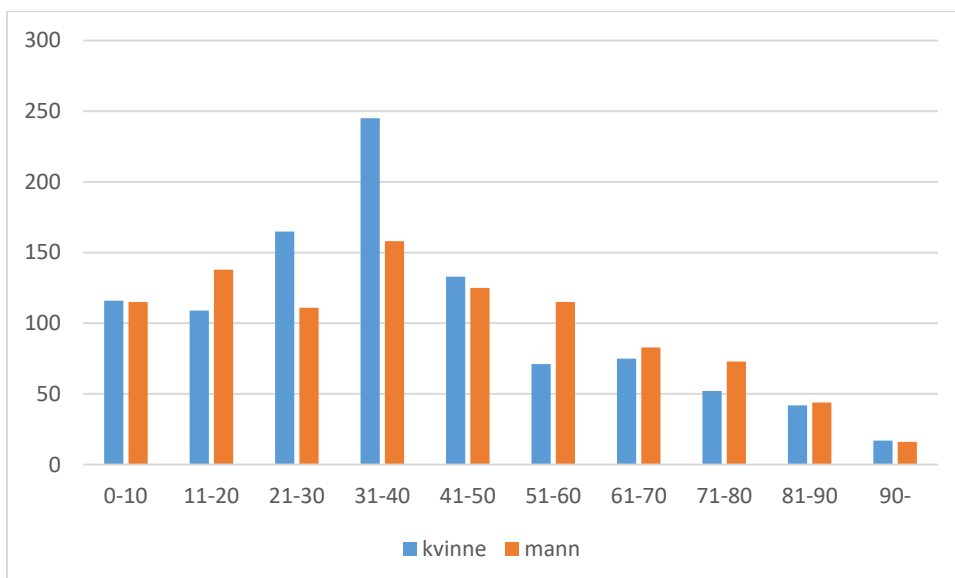
I 2022 mottok MRSA referanselaboratorium i tillegg 21 *mecA*-positive *S. argenteus*-isolater og 25 *mecA*-positive *S. lugdunensis*-isolater. Av de *mecA*-positive *S. lugdunensis* var 20 isolater cefoxitinresistente og 5 cefoxitinfølsomme utfra fenotypisk resistensbestemmelse.



**Figur 1:** Antall mottatte MRSA-stammer per individ per år fra 2005-2022.

**Tabell 1:** Antall humane MRSA-stammer fordelt på fylke (bosted). Stammer fra personer uten oppgitt bosted er ikke inkludert.

Fylke	Innbyggertall, 4.kvartal 2022	MRSA positive	Insidens (per 100 000)
Viken	1 292 241	631	49
Oslo	709 037	552	77
Innlandet	373 628	132	35
Vestfold og Telemark	429 101	128	30
Agder	316 051	119	38
Rogaland	492 350	178	36
Vestland	646 205	149	23
Møre og Romsdal	268 365	99	37
Trøndelag	478 470	163	34
Nordland	241 084	31	13
Troms og Finnmark	242 452	120	49



**Figur 2:** Antall mottatte MRSA-prøver fordelt på alder og kjønn



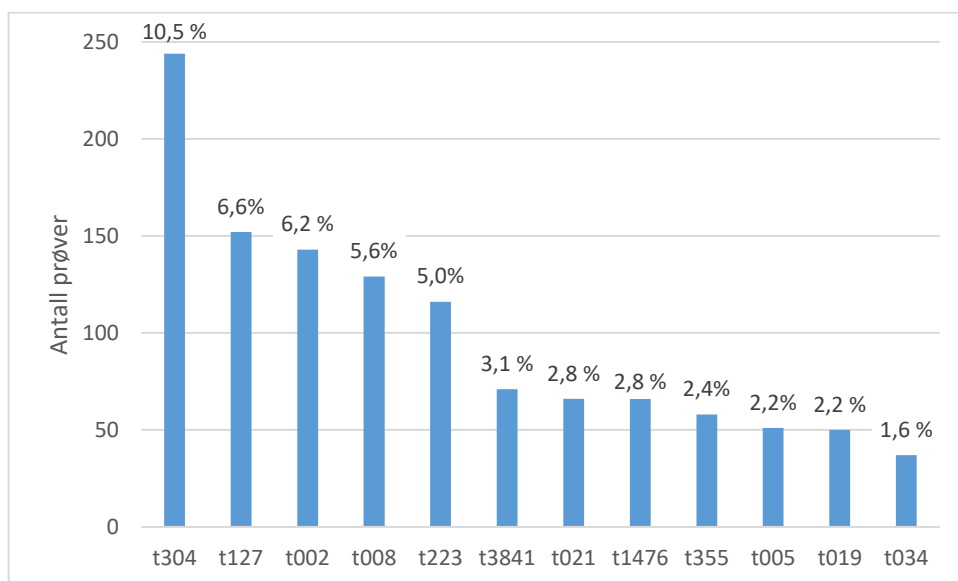
## Spa-typing

Det ble i 2022 *spa*-typet 2232 isolater (100 %), inkludert seks veterinærstammer. Dette utgjør en økning sammenlignet med forrige år, hvor det ble utført selektiv *spa*-typing av 1325 av 1899 isolater (70 %).

Det ble påvist 332 ulike *spa*-typer blant de humane MRSA stammene i 2022. I pandemiårene 2021 og 2020 ble det påvist henholdsvis 240 og 264 ulike *spa*-typer. Lavere diversitet i 2020 og 2021 skyldtes trolig en kombinasjon av pandemi og selektiv *spa*-typing. Figur 3 viser oversikt over de 12 vanligste *spa*-typene som ble påvist i 2022. De seks hyppigst påviste *spa*-typene har vært de samme i flere år, men rekkefølgen varierer. De seks hyppigst påviste *spa*-typene var t304 (11 %), t127 (7 %), t002 (6 %), t008 (6 %), t223 (5 %) og t3841 (3 %). Utbrudd vil kunne påvirke statistikken, men i 2022 hadde vi ingen kjente utbrudd med >10 påviste tilfeller. Antall *spa*-typer som ble funnet færre enn 5 ganger i 2022 var 282. Genotypene t3841 (n=71) og t1476 (n=66) har økt de siste årene, og disse vil vi følge med på videre.

LA-MRSA, definert som *spa*-typer assosiert med CC398, ble påvist hos 40 humane stammer (*spa*-type t034 n=32, t011 n=11, t571 n=1, t1255=2)). Av disse var 17 isolater (43 %) PVL negative (t034 n=13, t011 n=7). De tre stammene som var *mecC* positive tilhørte *spa*-type t843 (CC130).

MRSA referanselaboratorium mottok seks veterinærstammer, tilhørende *spa*-type t1403 (CC133, n=2, storfe) og t355 (CC152, n=4, storfe).



**Figur 3:** De vanligste MRSA *spa*-typer påvist i 2022. Vist i antall stammer og prosent av totalt antall *spa*-typer.

## Klonalkomplekser

De ti hyppigste klonalkomplekser med tilhørende *spa*-typer vises i tabell 2.

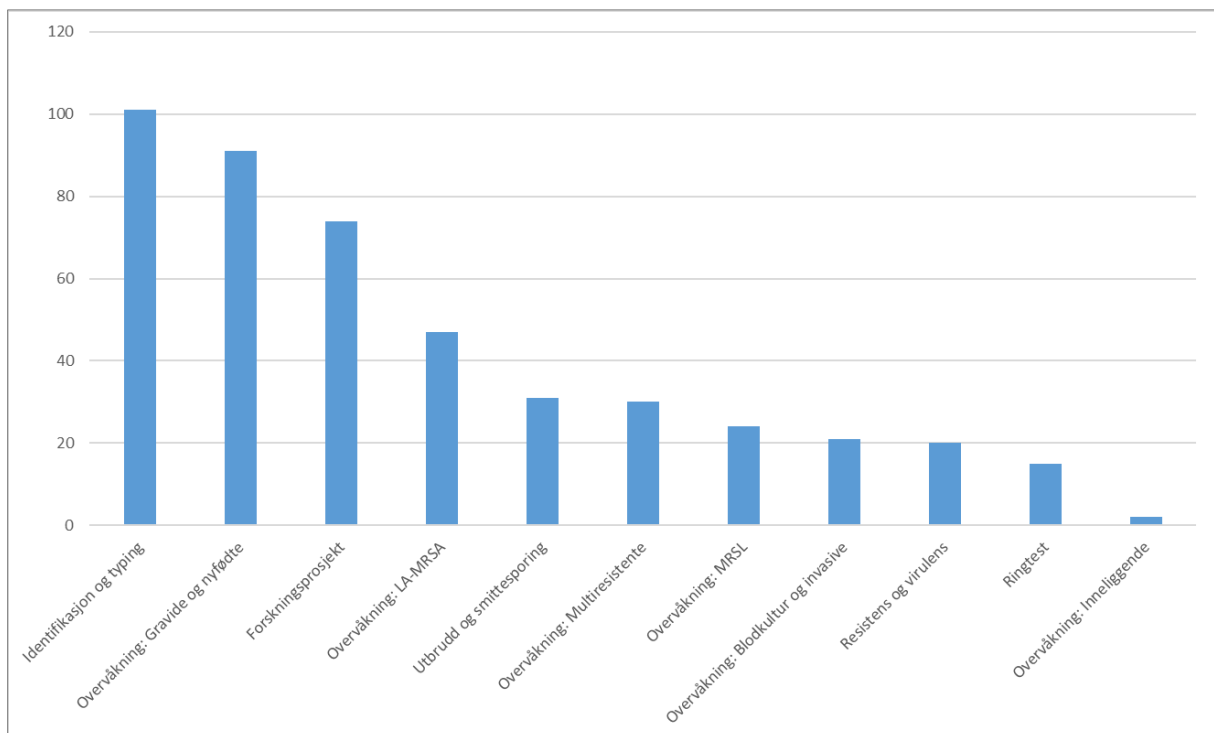
De hyppigst forekommende klonalkomplekser er CC6 (13,6 %) og CC5 (13,4 %) (Tabell 2). CC6 har økt de siste årene pga. økning av *spa*-type t304.

**Tabell 2:** De 10 vanligste klonalkomplekser (CC) og de hyppigst tilhørende *spa*-typene.

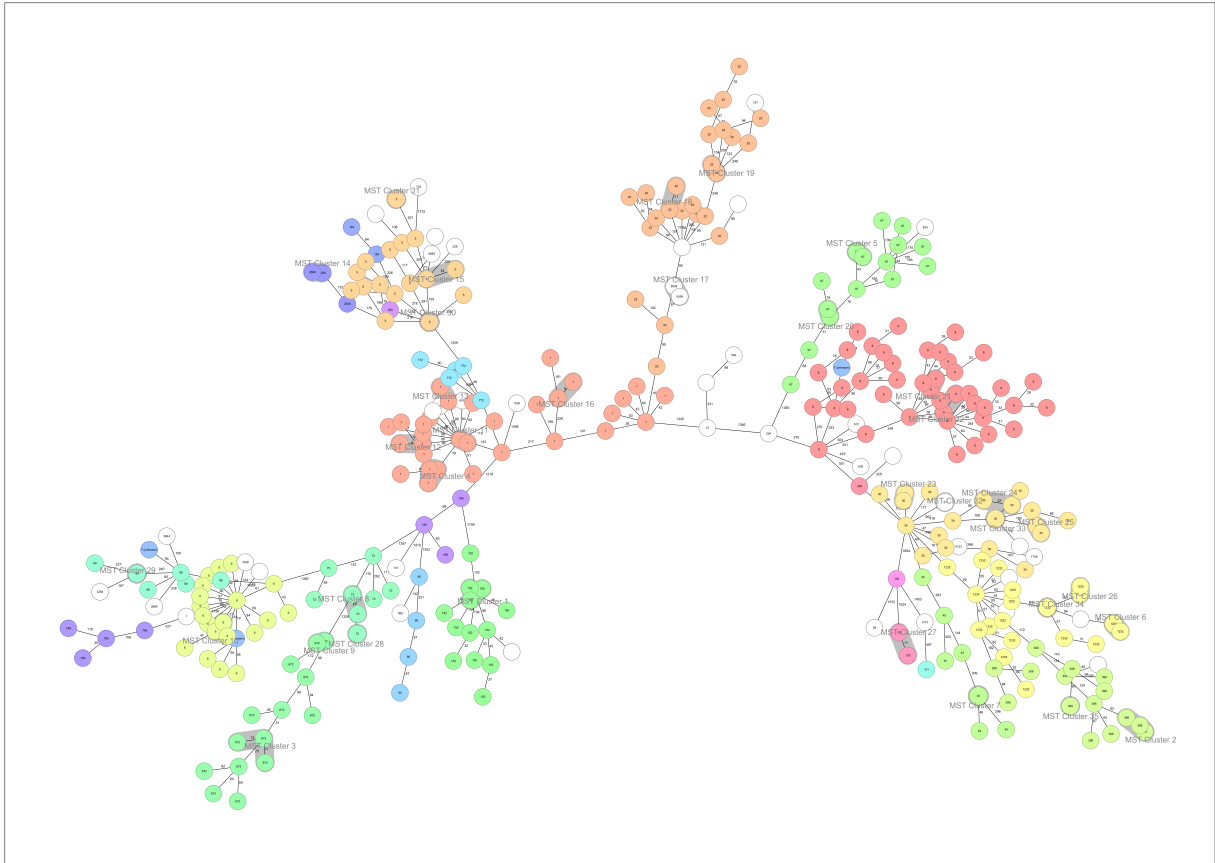
CC	Totalt antall isolater per CC	Hyppigst forekommende <i>spa</i> -typer
CC6	303 (13,6 %)	t304 (244), t701 (33), t10546 (9), t9736 (9), t648 (6)
CC5	299 (13,4 %)	t002 (143), t688 (31), t311 (29), t105 (27), t088 (8), t450 (7)
CC8	251 (11,2 %)	t008 (129), t1476 (66), t024 (29), t4549 (11), t211 (8)
CC1	236 (10,6 %)	t127 (152), t657 (25), t386 (20), t5388 (4), t5414(3)
CC22	223 (10,0%)	t223 (116), t005 (51), t852 (11), 309 (9), t5178 (8), t3375 (4)
CC30	173 (7,8 %)	t021 (66), t019 (50), t363 (32), t726 (4), t665 (3)
CC88	102 (4,6 %)	t690 (28), t1855 (16) t1339 (13), t086 (6), t729 (4), t5041 (4)
CC672	83 (3,7% )	t3841 (71), t1309 (9), t3175 (2)
CC152	73 (3,3 %)	t355 (58), t5191 (6), t1419 (4)
CC398	48 (2,2 %)	t034 (34), t011 (11)

## Helgenomsekvensering

Helgenomsekvensering (WGS, Illumina-metodikk) har blitt utført på utvalgte stammer som angitt av prioriteringskriterier og utgjør totalt 456 stammer for 2022. Dette inkluderer helgenomsekvensering av hovedsakelig *S. aureus* (n=409), i tillegg til noen få andre stafylokokker som *S. lugdunensis* (n=30), *S. argenteus* (n=14) og *S. epidermidis* (n=3). Av totalen var 22,1 % relatert til identifikasjon/typing, 20,0 % overvåking av gravide og nyfødte, 16,2 % til forskningsprosjekter og 10,3 % overvåking av LA-MRSA. Resten av stammene fordeles på kategori som angitt i Figur 4. Overvåking av MRSA ved kjernegenom MLST (Ridom SeqSphere+) har påvist 35 clusterer bestående av prøver med mulig smittesammenheng i 2022 (Figur 5). Alle clusterer bestod av 2-4 prøver, og mange av disse hadde kjent epidemiologisk tilknytning. Dataverktøyet har vist seg å fungere godt for MRSA overvåking og utbruddsopklaring.



**Figur 4:** Stammer til helgenomsekvensering i 2022 fordelt på kategori.



**Figur 5:** Minimum spanning tree med logaritmisk skala basert på *S. aureus* kjernegenom MLST (1861 gener) av alle helgenomsekvenserte MRSA mottatt i 2022 (n=334). Individuelle stammer er farget og navngitt basert på sekvenstype, og clustre (distanse mindre enn 24) er markert i grått. Figur laget med Ridom SeqSphere+ software.

## Antibiotikaresistens

Oversikten over antimikrobiell resistens for alle humane MRSA-isolater mottatt av referanselaboratoriet i 2022 er vist i tabell 4, hvor høyest andel av resistens ble funnet for erytromycin (38,8 %), etterfulgt av ciprofloksacin (31,6 %) og tetracyclin (27,4 %). For disse midlene har det vært en del variasjon i andel resistente stammer de siste årene, muligens pga. endringer i hvilke *spa*-typer som dominerer. For ciprofloksacin er det mange isolater som ligger rundt brytningspunktet, med mulighet for ulik tolkning ved ulike laboratorier. For klindamycin kan det bidra til svingninger at det har vært ulik praksis for tolkning av stammer med stor sone og påvist induserbar resistens, mens det nå er anbefalt fra EUCAST/ NordicAST å besvare disse som resistente. Det var lav andel resistens for rifampicin (1,8 %), trimetoprim-sulfa (1,5 %) og mupirocin (1,2 %), men sistnevnte har økt fra 0,2 % i 2021. Dette skyldtes blant annet en økning av mupirocinresistente MRSA *spa*-type t3841. Det ble ikke funnet noen tilfeller av resistens mot linezolid eller vankomycin i 2022.

**Tabell 3:** Oversikt over følsomhet for utvalgte antibiotika for alle mottatte humane MRSA-isolater (n=2229) i 2022. 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	61,1	0,4	38,5	2222
Klindamycin *	S≥22, R<22	84,2	-	15,8	2190
Fucidin	R<24	84	-	16	2223
Trimetoprim-sulfa	S≥17, R<14	97,5	0,9	1,5	2225
Tetracyclin	S≥22, R<19	73	0,0	27	2220
Gentamycin	R<18	85,1	-	14,9	2223
Rifampicin	S≥26, R<26	98,2	0,0	1,8	2222
Mupirocin	S≥30, R<18	95,6	3,2	1,2	2220
Ciprofloksacin/ Norfloksacin	S≥50, R<21	-	68,2	31,8	2221
Linezolid	R<21	100	0,0	0,0	2228
Vankomycin	R>2mg/L	100	0,0	0,0	2220
Induserbar klindamycinresistens				7,4	2190

\*Inkludert induserbar klindamycinresistens

## Aktiviteter 2022

### Publikasjoner

- Valérie O. Baede, Michael Z. David, Arjana Tambic Andrasevic, Dominique S. Blanc, Michael Borg, Grainne Brennan, Boudewijn Catry, Aurélie Chabaud, Joanna Empel, Hege Enger, Marie Hallin, Marina Ivanova, Andreas Kronenberg, Kuntaman Kuntaman, Anders Rhod Larsen, Katrien Latour, Jodi A. Lindsay, Bruno Pichon, Dewi Santosaningsih, Leo M. Schouls, François Vandenesch, Guido Werner, Dorota Žabicka, Helena Žemličková, Harald Seifert, Margreet C. Vos. **MRSA surveillance programmes worldwide: moving towards a harmonised international approach**. International Journal of Antimicrobial Agents, Volume 59, Issue 3, 2022, 106538, ISSN 0924-8579

### Deltagelse på kurs/møter

- AFA-kurs. Resistensbestemmelse av mikrober. KSS
- Høstkonferansen i mikrobiologi. KSS
- 13th International Meeting on Microbial Epidemiological Markers (IMMEM XIII): "Establishing whole genome sequencing at the core of epidemiological surveillance". CGÅ, TGR
- Moving beyond single species outbreaks: the role of mobile genetic elements. ESCMID-ESGEM. CGÅ, TGR
- Symposium i forbindelse med KRES sitt 20-årsjubileum. CGÅ, HE

### Webinar

- Using genomics for antimicrobial resistance at the public health and clinical interface. CGÅ
- Evolutionary history and zoonotic transmission of *mecC*-MRSA: the role of hedgehogs and antibiotic-producing dermatophytes. CGÅ, HE

### Arrangør av kurs/møter

- MRSA referansegruppemøte 22.11.22 Gardermoen. Alle
- Norwegian Consortium for Microbial Genomics Meeting 08.12.22. LCO

### Undervisning eksternt

- AFA-kurs. Resistensbestemmelse av mikrober. Meticillinresistens og glykopeptidresistens hos stafylokokker. HE
- MOL3023 NTNU: *Staphylococcus aureus*-the bacterium. CGÅ

### Studier/prosjekter

- Meticillinresistente *S. argenteus* i Norge. TGR, CGÅ, HE
- Annerledeslandet Norge: Overvåking av MRSA gjennom 10 år. TGR, CGÅ, HE
- MRSA t127- utbrudd og oppfølging. UNN, UiT, MRSA ref.lab. CGÅ, Kjersti Wik Larssen
- 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

## Veiledning

- Forskerlinjeoppgave: Metodevalidering for adheranse (fibrinogen/fibronectin) hos *Staphylococcus aureus*. CGÅ, Ingvild Haugan, Jan Egil Afset
- Masteroppgave: Molecular characterization and whole genome epidemiology of *Staphylococcus aureus* strains. CGÅ, Jan Egil Afset
- PhD: Towards precision medicine in *Staphylococcus aureus* sepsis: influence of bacterial characteristics on clinical outcome, metastatic infections and relapse. CGÅ medveileder for Ingvild Haugan

## Søknader/godkjenninger

- LMK: "Presisjonsmedisin: Automasjon av arbeidsprosesser for forskning og diagnostikk innen NGS". CGÅ
- REK: Meticillinresistente *Staphylococcus argenteus* i Norge
- SO Postdoc: Improving prediction and treatment of bloodstream infection and sepsis: identifying novel host genetic and *Staphylococcus aureus* virulence factors. Geminisenter for sepsis. CGÅ
- NFR (Norges forskningsråd): Disinfection is a missing link in the fight against AMR. Sintef. CGÅ

## Nyhetsbrev

- Februar 2022

## "Tidstyver"

- Nasjonalt utbrudd av *Pseudomonas aeruginosa*. NGS og etablering av utbrudds-PCR. TGR, CGÅ, HE
- Nasjonalt utbrudd av *Serratia marcescens*. NGS og etablering av utbrudds-PCR. TGR, CGÅ