

Screening for MRSA bærertilstand

Anbefalinger:

Ved undersøgelse for MRSA bærertilstand tages prøver fra næse og tonsillejer, for indlagte patienter desuden også fra perineum. Desuden podes fra eventuelle fremmedlegemer og/eller sår.

For at opnå bedst sensitivitet for detektion af MRSA i screenings prøver anbefales det at anvende opformering i selektiv MRSA opformeringsbouillon 16-24 timer før udsåning på MRSA kromogen plade og/eller 5% blodplade

Genotypisk detektion direkte fra patientprøver har kun moderat sensitivitet og specificitet. Det anbefales derfor, at disse metoder ikke anvendes uden at prøven samtidig dyrkes.

Baggrund

Undersøgelse for MRSA bærertilstand er en væsentlig komponent i den danske strategi for bekæmpelse af MRSA (jf. Forebyggelse af spredning af MRSA, Sundhedsstyrelsen, 2012).

Staphylococcus aureus (SA) (inklusive MRSA) bæres på et givet tidspunkt af halvdelen af befolkningen. Omkring 20 % er permanente SA bærere, det vil sige bærer den samme SA type over lang tid. Ca. 30 %, bærer SA intermitterende og ved gentagne undersøgelser påvises forskellige typer.

Detektion af bærertilstand vanskeliggøres ved, at mængden af *S. aureus* kan være meget lav og der kan ligeledes ses en betydelig forekomst af anden bakterieflora (fx i prøver fra svælg eller perinaeum).

Næsen er det væsentligste kolonisationssted, men herudover koloniseres svælg og hud, herunder perineum, ofte. Flere undersøgelser har vist, at optimal sensitivitet kræver pødning fra flere lokalisationer. Det er således for nyligt vist, at MRSA af typen USA300 (ST8, t008, SCCmec IV)^{1,2} hyppigere findes på huden i urogenital området end i næsen.

Undersøgelser har vist, at sandsynligheden for spredning af SA øges med bakteriemængden og antallet af kolonisationssteder. Man skal dog være opmærksom på, at fordi man kun er positiv få steder / med lille mængde, så er det ikke ensbetydende med, at man ikke kan sprede MRSA. Hertil kommer, at visse omstændigheder, fx luftvejsinfektioner eller antibiotikabehandling, kan medføre en mangedobling af MRSA mængden samt en øget risiko for at sprede MRSA.

Undersøgelse for MRSA

Prøvetagningsudstyr og transportmedier indgår ikke i denne anbefaling.

Undersøgelse for MRSA kan være dyrkningsbaseret og/eller baseret på detektion af genomiske targets.

Endelig konfirmation af MRSA baserer sig på påvisning af *mecA/mecC*.

Dykningsbaseret detektion

Højeste sensitivitet af MRSA i screeningsprøver opnås ved anvendelse af opformering i selektiv MRSA opformeringsbouillon i 16–24 timer, efterfulgt af udsåning på MRSA kromogen plade og/eller 5 % blodplade med cefoxitin disk/tablet med aflæsning efter 16–24 timer. Danske³ og udenlandske undersøgelser^{1,4,5} viser, at brug af opformeringsbouillon øger den diagnostiske sensitivitet for detektion af MRSA 15–25 % i forhold til direkte udsåning på 5 % blodplader, MRSA kromogene plader eller mannitol salt-plader. Inkubation af plader mere end 24 timer fra opformede prøver frarådes som udgangspunkt på grund af stort antal falsk positive prøver (lav specificitet).

Genomisk detektion af MRSA og SA

Ved genomisk detektion påvises *mecA* genet eller *Sccmec* specifikke sekvenser. Kommercielle metoder anvender oftest *Sccmec* specifikke sekvenser således, at den ene primer er placeret i *Sccmec* kassetten og den anden primer i SA kromosomet. Disse metoder påviser således ikke selve *mecA* genet. En række almindelige MRSA typer bærer varianter af *SCCmec* kassetter, der ikke detekteres herunder spatype t024, der er meget almindelig i Danmark. Hertil kommer, at kun få af de kommercielle assays ikke detekterer *mecC* positive MRSA [januar 2014]. Begge dele kan lede til nedsat sensitivitet. Nogle *MSSA* stammer (dvs. *mecA/mecC* negative) indeholder desuden sekvenser, så de bliver positive i disse assays^{6,7}. Det skal bemærkes, at kommercielle metoder kun er godkendt til prøver fra næse. Der foreligger en del sammenligninger mellem PCR-metoder og optimeret dyrkning. Disse finder sensitivitet i området 80–95 % og specificitet på 93–98 % (referencer kan fås ved henvendelse til Robert Skov, SSI).

Valg af metode for screening for MRSA bærertilstand

Valg af antal podninger og hvorfra, der skal podes

I Danmark har det siden 2006 været anbefalet som minimum at pøde fra næse og svælg samt for indlagte patienter også fra perineum. Såfremt der er sår eller fremmedlegemer, der penetrerer huden, podes også fra disse/huden omkring disse. Hos patienter med KAD skal urinen undersøges for MRSA.

Valg af dyrkningsbaseret eller genomisk screening

På grund af den relativt beskedne sensitivitet kan PCR-metoder primært anvendes til at give et hurtigt, negativt svar mhp. at ophæve unødvendig isolation hos patienter, hvor mistanken til MRSA er relativt

beskeden. Der er derimod meget begrænset gevinst ved anvendelse hos højrisiko patienter, (de vil alligevel ligge isoleret på den kliniske mistanke indtil dyrknings svar afklarer, om patienten er MRSA positiv). Undersøgelser har vist, at pooling af prøver (fra flere lokaliteter) nedsætter sensitiviteten (gælder både ved dyrkning og PCR) – det er dog uklart i hvor stor grad samt hvad den faktiske konsekvens er af dette.

Metodebeskrivelser

Dyrkningsbaserede metoder

1. Opformering i selektiv MRSA opformeringsbouillon i 16–18 timer ved 35–37°C.
 - a. fx TSB opformeringsbouillon indeholdende 2,5 % NaCl, 3,5 mg/L cefoxitin og 20 mg/L aztreonam^{6,9}.
2. Fra opformeringsbouillon udsås på MRSA kromogen plade og/eller MH plade med cefoxitin disk/tablet og aflæses efter normale retningslinjer. Pladerne inkuberes ved 35–37°C i 16–24 timer. (Inkubation af plader mere end 24 timer fra opformede prøver frarådes på grund af stort antal falsk positive prøver (lav specificitet)).
3. Ved vækst på kromogene plader / på MH agar < 22 mm konfirmeres MRSA med PCR for *mecA* og *mecC*.
 - a. Såfremt man ikke råder over PCR, kan man evt. lave agglutination for pbp2a (disse dækker dog ikke *mecC* positive isolater).

Genomisk detektion af MRSA og SA

Antallet af kommercielle metoder til påvisning af MRSA i screeningsprøver er under hurtig ekspansion⁸, og de nyeste metoder er bedre til at finde MRSA end 1. generationsmetoder. Dette skyldes, at de har bedre orfX-SCC*mec* primere samt kontroller for *mecA* og validering af, at der er en *S. aureus* i prøven. Man bør følge fabrikantens anvisninger samt i øvrigt validere metoden med henblik på anvendelighed i den lokale epidemiologi

Ved brug af in-house PCR er det erfaringen fra KMA Vejle, at det er nødvendigt at foretage opformering natten over for at opnå tilstrækkelig sensitivitet.

Referencer

1. McAllister SK et al. Evaluation of the impact of direct plating, broth enrichment, and specimen source on recovery and diversity of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates among HIV-infected outpatients. *J Clin Microbiol* 2011;49(12):4126-30.
2. Miller LG et al. *Staphylococcus aureus* colonization among household contacts of patients with skin Infections: Risk factors, strain discordance, and Complex ecology. *Clin Inf Dis* 2012;54(11):1523–35
3. Böcher S et al. Semi-selective broth improves screening for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother.* 2010;65(4):717-20.

4. Lauderdale TL et al. Carriage rates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) depend on anatomic location, the number of sites cultured, culture methods, and the distribution of clonotypes. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2010;29(12):1553-9.
 5. Van Heirstraeten L et al. Impact of a short period of pre-enrichment on detection and bacterial loads of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from screening specimens. *J Clin Microbiol*. 2009;47(10):3326-8. Aydiner A, Lüsebrink J, Schildgen V, Winterfeld I, Knüver O, Schwarz K,
 6. Stamper PD et al. Genotypic and phenotypic characterization of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* isolates misidentified as methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by the BD GeneOhm MRSA assay. *J Clin Microbiol* 2011;49(4):1240-4.
 7. Dominique S. Blanc et al. High Proportion of Wrongly Identified Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Carriers by Use of a Rapid Commercial PCR Assay Due to Presence of Staphylococcal Cassette chromosome Element Lacking the *mecA* Gene. *J Clin Microbiol*. 2011;49(2):722–4
 8. Messler S, Schildgen O, Mattner F. Comparison of two commercial PCR methods for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) screening in a tertiary care hospital. *PLoS One*. 2012;7(9):e43935.
-