Screening for bærertilstand af

Vancomycin Resistente Enterokokker (VRE)

Udarbejdet af: Barbara Holzknecht, Pia Littauer, Dennis Schrøder Hansen

# Anbefalinger

Screening for Vancomycin Resistente Enterokokker (VRE) udføres på rektalpodning eller fæcesprøve. Ved tidligere VRE-fund tages også prøver fra de tidligere foci, om muligt. Desuden podes der fra eventuelle sår og der sendes trakealsekret fra intuberede patienter og urin, såfremt patienten har urinvejskateter.

For at opnå den højeste sensitivitet ved dyrkningsbaseret screening anbefales opformering i en selektiv VRE opformeringsbouillon overnat efterfulgt af udsåning på en selektiv kromogen plade eller anden selektiv vancomycin-holdig plade. Fund af VRE bekræftes med resistensbestemmelse for vancomycin og evt. teicoplanin og PCR for glycopeptidresistensgener (*van*).

Direkte påvisning af *vanA* og *vanB* gen ved genotypiske metoder på prøvemateriale (evt. efter opformering) bør altid konfirmeres med dyrkning.

# Baggrund

*Enterococcus faecium* og *E. faecalis* er årsag til de fleste kliniske enterokok infektioner. Erhvervet resistens mod vancomycin og andre glycopeptidantibiotika ses i stigende grad i *E. faecium* og *E. faecalis*. Vancomycin resistensgener (*van)* medfører ændringer i cellevægsforstadier som nedsætter bindingsevnen for glykopeptider. Der findes flere vancomycin resistensgener, men *vanA* og *vanB* er de hyppigst forekommende og begge er overførbare. *E. gallinarum* og *E. casseliflavus* derimod, er naturligt vancomycin resistente, og bærer det kromosomale *vanC* gen, men udgør sjældent et hygiejnemæssigt problem.

VanA VRE er vancomycin resistente (MIC >64 mg/L) og teicoplanin resistente (MIC >16 mg/L), mens vanB VRE er vancomycin resistente (variabel MIC, 4 - 32 mg/L), men teicoplanin følsomme (MIC < 2 mg/L)1.

Ved hospitalsudbrud er det vist, at fund af VRE i kliniske isolater kun identificerer en lille del af de VRE positive patienter og ved screening findes mindst 10 gange flere VRE positive patienter 2, 3. Enterokokker er en del af tarmfloraen, og rektalpodning eller fæcesprøve anbefales derfor som screening for VRE bærertilstand. VRE bærertilstand er ofte langvarige (flere måneder)4. Der findes ikke behandling for VRE bærertilstand.

# Prøvetagning og transport

Der tages følgende prøver:

* Rektal podning (kulpodepind i Stuarts transportmedium eller flocked swab i tilhørende, fx Amies, transport medium). Ved stomi podes fra stomi. Alternativt kan podepind dyppes i fæcesprøve.
* Podning fra eventuelle sår.
* Urin, såfremt patienten har urinvejskateter.
* Trakealsekret hos intuberede patienter.
* Ved tidligere VRE-fund tages prøver fra de tidligere foci, om muligt.

# Dyrkningsbaseret screening

Opformering overnat (18 timer) i vækstmedie suppleret med vancomycin øger sensitiviteten af undersøgelsen5. Der anbefales vancomycin koncentration på 4 mg/L for at sikre vækst af *vanB* positive stammer med lavt vancomycin MIC. Samtidig tilsætning af aztreonam (fx 60 mg/L) hæmmer vækst af gram negative stave.

Flere studier af kromogene plader viser høj specificitet og sensitivitet 5-7, men *vanB* positive stammer med lav vancomycin MIC kan blive hæmmet8. Som alternativ til kromogen plade kan anden vancomycin-holdig agarplade anvendes eller agarplade med vancomycin disk.

Vækst af VRE-lignende kolonier på kromogen eller anden selektiv plade konfirmeres med speciesidentifikation, og vancomycin og eventuelt også teicoplanin resistensbestemmelse. Påvisning af resistensgener med PCR udføres på referencelaboratorium.

## Metodebeskrivelse

1. Opformering i opformeringsbouillon:

Der kan fx bruges BHI med Vancomycin 4 mg/l og 60 mg/l Aztreonam. Har laboratoriet ikke et specifikt opformeringsmedie på lager kan fx en oksebouillon eller serumbouillon hvor man tilsætter vancomycin i form af disk til den ønskede koncentration anvendes.

Ved brug af kulpodepinde overføres denne i opformeringsbouillonen og bliver medinkuberet. Flocked swab rystes nogle gange i opformeringsbouillonen og sættes tilbage i transportmediet, alternativt tages 100µl af det flydende transportmedie. Inkuberes ved 35° C atm overnat (18 timer).

Andet prøvemateriale end rektalpodninger udsås direkte på selektiv plade. Alternativt kan en podepind dyppes i prøven (fx ekspektorater), hvorefter podepinden overføres til opformeringsbouillon. Ved urin overføres der 100 µl til opformeringsbouillon.

2. Udsåning fra opformeringsbouillon:

Udsåning på kromogen VRE plade eller anden vancomycin-holdig selektiv plade.

Ved brug af kulpodepind udsås fra opformeringsbouillonen på plade ved hjælp af podepinden. Ellers dyppes en 10 µl øjepodenål i bouillonen og efter omrøring afsættes materialet på den selektive plade og spredes med en steril podenål. Inkuberes ved 35° C atm og aflæses efter 1. og 2. døgn.

3. Aflæsning:

Ved vækst af VRE-lignende kolonier udføres species identifikation (fx med MALDI-TOF). Ved førstegangsfund af VRE hos patienten bekræftes resultatet med resistensbestemmelse for vancomycin og eventuelt teicoplanin og resistensgen påvises med specifik PCR.

4. Til overvågning sendes det første isolat per patient til reference laboratoriet på Statens Serum Institut.

# Genotypiske metoder

Genotypiske metoder bygger på direkte påvisning af resistensgenerne *vanA* og *vanB*. Der findes flere kommercielle assays eller in-house metoder. For forskellige assays og i forskellige settings er der beskrevet sensitivitet på 60-95%9-11. Opformering overnat inden molekylærbiologisk analyse kan bruges til at øge sensitiviteten12, 13. Da anaerobe bakterier i tarmfloraen kan bære *vanB* gen er den positive prædiktive værdi for *vanB* meget lav12 og det anbefales generelt at positive PCR resultater konfirmeres med dyrkning, ikke mindst i overvågnings øjemed.

# Referencer

Reference List

 1. Werner G, Coque TM, Hammerum AM et al. Emergence and spread of vancomycin resistance among enterococci in Europe. Euro Surveill 2008;13(47).

 2. Calfee DP. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus and vancomycin-resistant enterococci, and other Gram-positives in healthcare. Curr Opin Infect Dis 2012;25(4):385-394.

 3. Mascini EM, Bonten MJ. Vancomycin-resistant enterococci: consequences for therapy and infection control. Clin Microbiol Infect 2005;11 Suppl 4:43-56.

 4. Byers KE, Anglim AM, Anneski CJ, Farr BM. Duration of colonization with vancomycin-resistant Enterococcus. Infect Control Hosp Epidemiol 2002;23(4):207-211.

 5. Kuch A, Stefaniuk E, Ozorowski T, Hryniewicz W. New selective and differential chromogenic agar medium, chromID VRE, for screening vancomycin-resistant Enterococcus species. J Microbiol Methods 2009;77(1):124-126.

 6. Peltroche-Llacsahuanga H, Top J, Weber-Heynemann J, Lutticken R, Haase G. Comparison of two chromogenic media for selective isolation of vancomycin-resistant enterococci from stool specimens. J Clin Microbiol 2009;47(12):4113-4116.

 7. Delmas J, Robin F, Schweitzer C, Lesens O, Bonnet R. Evaluation of a new chromogenic medium, ChromID VRE, for detection of vancomycin-resistant Enterococci in stool samples and rectal swabs. J Clin Microbiol 2007;45(8):2731-2733.

 8. Adler H, Oezcan S, Frei R. Vancomycin-resistant Enterococci of vanB genotype may pose problems for screening with highly selective media. J Clin Microbiol 2010;48(6):2323.

 9. Mak A, Miller MA, Chong G, Monczak Y. Comparison of PCR and culture for screening of vancomycin-resistant Enterococci: highly disparate results for vanA and vanB. J Clin Microbiol 2009;47(12):4136-4137.

 10. Marner ES, Wolk DM, Carr J et al. Diagnostic accuracy of the Cepheid GeneXpert vanA/vanB assay ver. 1.0 to detect the vanA and vanB vancomycin resistance genes in Enterococcus from perianal specimens. Diagn Microbiol Infect Dis 2011;69(4):382-389.

 11. Zabicka D, Strzelecki J, Wozniak A et al. Efficiency of the Cepheid Xpert vanA/vanB assay for screening of colonization with vancomycin-resistant enterococci during hospital outbreak. Antonie Van Leeuwenhoek 2012;101(3):671-675.

 12. Werner G, Serr A, Schutt S et al. Comparison of direct cultivation on a selective solid medium, polymerase chain reaction from an enrichment broth, and the BD GeneOhm VanR Assay for identification of vancomycin-resistant enterococci in screening specimens. Diagn Microbiol Infect Dis 2011;70(4):512-521.

 13. Fang H, Nord CE, Ullberg M. Screening for vancomycin-resistant enterococci: results of a survey in Stockholm. APMIS 2010;118(5):413-417.

# Forfattere:

Barbara Holzknecht, KMA Herlev, barbara.juliane.holzknecht@regionh.dk

Pia Littauer, KMA Hvidovre, Pia.Jeanette.Littauer@regionh.dk

Dennis Schrøder Hansen, KMA Herlev, dennis.schroeder.hansen.01@regionh.dk

Version 1, 8.10.2014