Anvisning om identifiering och insändning till Evira av MRSA-stammar och stammar som producerar betalaktamaser med utvidgat spektrum

1 Lagstiftning som förpliktar till insändning av stammar och prover

Om sändning till ett nationellt referenslaboratorium av mikrobstammar som orsakar djursjukdomar som ska bekämpas och stammar som orsakar anmälningspliktiga djursjukdomar föreskrivs i lagen om djursjukdomar (441/2013) och jord- och skogsbruksministeriets förordning (JSMf 1010/2013) som utfärdades 12.12.2013. Godkända laboratorier och laboratorier som undersöker anmälningspliktiga djursjukdomar ska även sända in MRSA-bakterier och bakterier som producerar betalaktamaser med utvidgat spektrum.

2 Identifiering av MRSA-stammar och stammar som producerar betalaktamaser med utvidgat spektrum (ESBL/AmpC och karbapenemaser) som ska sändas in till Evira

Med stöd av jord- och skogsbruksministeriet förordning **JSMf 1010/2013** som utfärdades 12.12.2013 ska MRSA-stammar och stammar som producerar betalaktamaser med utvidgat spektrum identifieras enligt följande innan de sänds till Evira (om inte laboratoriet använder PCR-metoder som identifierar MRSA, ESBL/AmpC och/eller karbapenemaser).

2.1 MRSA-stammar

MRSA betyder meticillinresistenta *Staphylococcus aureus*-bakterier. *Staphylococcus aureus* är en allmän bakterie som förekommer på hud och slemhinnor i de övre luftvägarna hos friska människor och djur. MRSA skiljer sig från vanliga *S. aureus*-bakterier på grund av dess antimikrobiella resistens: den är resistent mot alla betalaktamer.

MRSA-stammar som sänds till Evira ska verifieras som *Staphylococcus aureus* genom positivt resultat av koagulastest och påvisande av resistens mot polymyxin B (300 IU) och resistens mot meticillin genom påvisande av deras resistens mot cefoxitin (30 µg) eller oxacillin (1 µg) (Tabell 1).

Tabell 1. Identifiering av stafylokocker och påvisande av resistens.

Bakterieart	Koagulas-test[2]	Polymyxin B disk (300 IU)[3]	Cefoxitin disk (30 µg)[3]	Oxacillin disk (1 µg)[3]	
MRSA	positiv	R, < 10mm	R, ≤ 21 mm	R, ≤ 12 mm	SÄNDS TILL EVIRA
MRSP/MRSI[1]	positiv	S, ≥ 10 mm	rekommenderas inte	R, ≤ 17 mm	SÄNDS INTE TILL EVIRA
MRS, koagulas-negativ	negativ	S, ≥ 10 mm	R, ≤ 24 mm	R, ≤ 17 mm	SÄNDS INTE TILL EVIRA

[1]meticillinresistent *S. pseudintermedius/intermedius*
[2]stammens förmåga att producera fritt koagulas enzym. Påvisas genom inkubering av (kanin) plasma 1-24h 37,0 ±1,0 °C inokulerad med stammen som analyseras.
[3]test av antibiotikakänslighet med diskdiffusionsmetoden (CLSI/ EUCAST) på Müller-Hinton skål; anvisning på Eviras webbplats:
https://www.evira.fi/sv/om-evira/om-oss/verksamhet/laboratorieverksamhet/referenslaboratorieverksamhet2/instruktioner-till-laboratorierna/testning-av-antibiotikakansligheten/

2.2 Stammar som producerar betalaktamaser med utvidgat spektrum

Med stammar som producerar betalaktamaser med utvidgat spektrum avses enterobakterier som producerar ESBL- och AmpC-enzymer samt karbapenemaser. Betalaktamaser med utvidgat spektrum som producerats av bakterierna bryter ner tredje generationens cefalosporiner (t.ex. ceftiofur) och/eller karbapenemer (t.ex. meropenem, ertapenem) och åstadkommer bakteriell resistens mot betalaktamer som används allmänt vid medicinsk behandling av djur och människor.

Betalaktamaser med utvidgat spektrum påvisas hos flera arter av enterobakterier, i synnerhet *E. coli* och *Klebsiella* spp. Dessa bakterier påvisas i stora mängder i träckprover från nästan alla husdjur och sällskapsdjur och de är också en vanlig orsak till infektioner.

Stammar som eventuellt producerar betalaktamaser med utvidgat spektrum som sänds in till Evira ska identifieras på artnivå (huvudsakligen *E. coli, Klebsiella* spp., *Proteus mirabilis* och *Salmonella* spp.) t.ex. med API 20 E (bioMérieux, Frankrike) eller en motsvarande biokemisk testserie.

Det är möjligt att bakteriestammen producerar ESBL/AmpC om den är resistent mot tredje generationens cefalosporiner (se tabell 2). ESBL/AmpC-egenskapen ska konfirmeras med ett pålitligt kommersiellt disk-test som särskiljer ESBL- och AmpC-stammar, exempelvis MAST antibiotikadiskar (Mast Group Ltd, England; D68C AmpC & ESβL Detection Set) eller ESBL + AmpC ScreenID kit (Rosco Diagnostica, Danmark). Vid användning av kommersiella ESBL/AmpC konfirmeringstester ska man först kontrollera testets lämplighet för olika bakteriearter i tillverkarens anvisning. ESBL-egenskapen kan även konfirmeras genom ett s.k. test med kombinationslappar, där hämningszon som orsakas av lappar som impregnerats med tredje generationens cefalosporin-klavulansyra jämförs med hämningszon som orsakas av motsvarande lappar med tredje generationens cefalosporiner (utan klavulansyra) (skillnaden mellan hämningszonerna ≥ 5 mm), men då kommer inte potentiella AmpC-stammar fram.

Det är möjligt att en bakterie producerar karbapenemas om den har sänkt känslighet för vissa karbapenemer, som meropenem eller ertapenem (tabell 2).

Tabell 2. Gränser[1] för screening av ESBL/AmpC-producerande bakterier på diskar med tredje generationens cefalosporiner och gränser[2] för screening av producenter av karbapenemas på diskar med ertapenem och meropenem.

Antibiotikadisk[3]	*E. coli, Klebsiella pneumoniae, Klebsiella oxytoca*	*Proteus mirabilis*
Cefpodoxim (10 µg) eller	Hämningszon < 17 mm	Hämningszon < 22 mm
Cefotaxim (30 µg) eller	Hämningszon < 27 mm	Hämningszon < 27 mm
Ceftazidim (30 µg)	Hämningszon < 22 mm	Hämningszon < 22 mm
Ertapenem (10 µg) eller	Hämningszon < 25 mm	Hämningszon < 25 mm
Meropenem (10 µg)	Hämningszon < 25 mm	Hämningszon < 25 mm

[1]Gränser för screening av ESBL/AmpC: CLSI, VET01-S2: Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals. 2nd Int. Suppl., July 2013

[2]Gränser för screening av producenter av karbapenemas: EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. Version 1.0, Dec. 2013

[3]test för antibiotikakänslighet med diskdiffusionsmetoden (CLSI/ EUCAST) på Müller-Hinton skål; anvisning på Eviras webbplats:
https://www.evira.fi/sv/om-evira/om-oss/verksamhet/laboratorieverksamhet/referenslaboratorieverksamhet2/instruktioner-till-laboratorierna/testning-av-antibiotikakansligheten/

3 Insändning till Evira av MRSA-stammar och stammar som producerar betalaktamas med utvidgat spektrum

Till Evira sänds alla **MRSA-stammar och stammar som producerar betalaktamaser med utvidgat spektrum** som isolerats från följande djur med undantag av de djur som markerats med en asterisk (*), från vilka endast sänds stammar som producerar betalaktamas med utvidgat spektrum som har orsakat symptom hos värddjuret:

- nötkreatur
- hästar*
- svin
- får och getdjur
- fåglar
- vattendjur
- hundar*
- katter*
- illrar*
- pälsdjur

MRSA-stammar och stammar som producerar betalaktamaser med utvidgat spektrum som isolerats från djur ska sändas till Evira så snart som möjligt efter att de har isolerats och identifierats. Det räcker med att sända en MRSA-stam och/eller en stam som producerar ESBL/AmpC/karbapenemas från ett djur (hobby- och sällskapsdjur) eller från en gård som håller produktionsdjur. Undvik att sända stora mängder stammar (>20 stammar) på en gång så att inte mottagningen av proverna och de fortsatta analyserna kör ihop sig.

Stammarna kan förvaras i kylskåp (5 ± 3 °C) i cirka en vecka innan de sänds in. Stammarna ska inte fräschas upp genom odling innan de sänds in. Det är önskvärt att leveransen kommer fram inom ett dygn efter att den sändes, och därför ska inga stammar sändas på fredagar eller helgdagsaftnar. Om stammarna inte sänds in inom en vecka ska de sättas i frysen (≤ -15 °C) och sändas till Evira minst varje månad.

Kontinuerlig odling av stammarna ska undvikas eftersom de kan förlora sin resistensplasmid under laboratorieförhållanden.

3.1 Anvisningar för insändning av prover

Följ Postens (Itellas) anvisningar för förpackning och sändning av laboratorieprover: http://www.posti.fi/foretag/posten-till-din-tjanst/instruktioner/

Förpackningarna ska vara täta och de får inte läcka. Bakteriestammar sänds i regel i transportrör eller odlade på blodskålar eller på något annat lämpligt, non-selektivt odlingssubstrat.

Till sändningen ska fogas Eviras remiss för ändamålet i fråga. Av remissen ska alltid framgå det sändande laboratoriets namn och adress, bakterieart, provnummer, djurart, djurets namn och/eller identifikation, provtagningsstället samt laboratoriets egna resultat av resistensbestämningen. Uppgifterna behövs för Eviras stamsamling och för uppföljning av det nationella resistensläget.

Remisser och anvisningar för insändning av prover finns på Eviras webbplats: https://www.evira.fi/sv/om-evira/om-oss/verksamhet/laboratorieverksamhet/referenslaboratorieverksamhet2/instruktioner-till-laboratorierna/testning-av-antibiotikakansligheten/

3.2 Försändelsekostnader och leveransadress för stammarna

I jord- och skogsbruksministeriets förordning 1010/2013 föreskrivs om laboratoriets skyldighet and sända in stammar. Evira ersätter inte försändelsekostnaderna. Laboratoriet kan fakturera kunden för postavgifterna.

Stammarna sänds till adressen:

Livsmedelssäkerhetsverket Evira
Forsknings- och laboratorieavdelningen
Forskningsenheten för livsmedels- och fodermikrobiologi
Antibiotikasektionen
Mustialagatan 3
00790 Helsingfors

3.3 Andra/fortsatta analyser, kostnader och feedback till laboratorierna

Med stöd av JSM:s förordning 1010/2013 utför Evira de fortsatta analyser som verket anser vara nödvändiga, enligt verkets tidtabell och på egen bekostnad och meddelar i regel inte resultaten av de fortsatta analyserna till den som sände in provet eller till uppdragsgivaren. Om det ändå bedöms att undersökningsresultatet är av väsentlig betydelse meddelar Evira resultatet per telefon till den som sände in stammen.

Om laboratoriet ber om fortsatta analyser av bakteriestammar (beställd analys) är de avgiftsbelagda.

För ytterligare information kontakta:

Suvi Nykäsenoja, specialforskare, suvi.nykasenoja@evira.fi, tfn 040 489 3447
Katariina Pekkanen, forskare, katariina.pekkanen@evira.fi, tfn 040 159 1267