

ÅRSRAPPORT for 2011

fra

Nasjonalt referanselaboratorium for
Francisella tularensis

Avdeling for medisinsk mikrobiologi, St. Olavs Hospital

Besøksadresse: Erling Skjalgsons gate 1 Postadresse: St. Olavs Hospital, 7006 Trondheim

Fax 725 76415 Epost: mikrobiologi@stolav.no

Bakgrunnsinformasjon

Helse Midt-Norge RHF ved St Olavs Hospital HF ble tildelt nasjonal referansefunksjon for diagnostikk av *Francisella tularensis* i 2005. Før dette hadde Avdeling for medisinsk mikrobiologi ved St. Olavs utført denne type diagnostikk for rekvirenter fra hele landet fra 1980-årene. Laboratoriet benytter både serologiske metoder, PCR og dyrkning i diagnostikken av tularemi.

Påvisning

Til serologiske analyser benyttes både mikroagglutinasjonsmetodikk (helcelleantigen) og ELISA (yttermembranantigen) for påvisning av spesifikt IgM og IgG (1). Et forhøyet agglutinasjonstiter på ≥ 128 eller minimum 4-fold titerstigning blir betraktet som positiv test. Siden titerstigningen kommer sent i forløpet av en akutt tularemi, vil undersøkelse av parsere være viktig.

For PCR benyttes primere spesifikke for et 17-kDa lipoproteingen som finnes hos alle *F.tularensis* subspecies (2).

Dyrkning utføres på sårsekret, aspirater og vevsprøver med bruk av Cystin Heart Agar i tillegg til konvensjonelle medier. I løpet av året har vi i tillegg til agar uten antibiotika etablert en Cystin Heart agar med antibiotika for dyrkning av overflateprøver, for eksempel fra sår og halsprøver.

Vi har også metodikk for analyse av vannprøver fra drikkevann (for eksempel vann fra private brønner). Vann (relativt stort volum ønskelig: min 1-2 liter) filtreres gjennom et membranfilter (porestørrelse 0,45 eller 0,22 μm) hvoretter filteret sendes til PCR-analyse.

Identifisering og verifisering av innsendte isolater

Diagnostikken av *F.tularensis* gjøres oftest ved serologi og PCR-analyse direkte på prøvemateriale, men laboratoriet mottar gjerne mistenkte tularemi-isolater fra andre laboratorier for identifikasjon ved PCR og DNA-sekvensering, samt resistensbestemmelse.

Pasientprøver som kan inneholde *F.tularensis* er i henhold til nasjonale og internasjonale retningslinjer for transport av infeksøst materiale klassifisert som kategori B, mens bakterieisolater som anses suspekt på eller er sikkert identifisert som *F.tularensis* klassifiseres som kategori A (3), og må derfor sendes i henhold til retningslinjer for Kategori A (4).

Detaljkarakterisering

Vi benytter en publisert real-time PCR metode for å kunne skille isolater av *F.tularensis* subspecies tularensis fra andre subspecies (5).

Fordi diagnosen oftest stilles med bruk av serologi eller PCR direkte på prøvemateriale, har inntil 2011 *F.tularensis* sjelden blitt isolert. Vi vil nå på bakgrunn av en betydelig økning i antall påviste isolater i 2011 vurdere etablering av genotyping av *F.tularensis*.

Resistensundersøkelser

Det er ikke etablert nasjonale retningslinjer for resistenstesting av *F.tularensis* i Norge.

Resistenstesting gjøres derfor i henhold til anbefaling i WHO Guidelines on Tularemia med brytningspunkter fra CLSI (6)

Stammebanketablering

Laboratoriet ønsker å etablere en stammebank av norske *F.tularensis*, men har i tidligere år mottatt få isolater. I forbindelse med utbruddet det siste året har vi mottatt 18 isolater av *F.tularensis* påvist hos mennesker, alle bekreftet som ikke-subspecies *tularensis*. I tillegg har vi innledet samarbeid med Veterinærinstituttet i Oslo og har mottatt ca 20 stammer isolert fra dyr gjennom flere år. Vi har også kjøpt referansestammer fra CCUG. Til sammen har vi ved årets utløp nærmere 50 stammer av *F.tularensis* i vår stammebank.

Kvalitetskontroll

Kvaliteten av de diagnostiske analyser kontrolleres ved positive og negative kontroller. I 2010 ble vi med i eksternt kvalitets-kontrollprogram for PCR påvisning av *F.tularensis* (.....), og etablerte samarbeid med Norrlands Universitetssjukhus, Umeå for eksternt kvalitetskontroll av *F.tularensis* serologi, både for mikroagglutinasjon og Elisa. Det finnes så langt vi vet ikke noe eksternt kvalitetskontrollprogram for dyrkning av *F.tularensis*.

Reagens- og stammeforsyning til brukerlaboratoriene

Det har så langt ikke vært ytret ønske om reagens- eller stammeforsyning til brukerlaboratorier, bortsett fra en forespørsel fra FHI hvor etter hvert man fikk stammer fra annet laboratorium.

Metodeutvikling og forskning

Vi har begynt å validere en kommersiell hurtigtest for serologisk påvisning av *F. tularensis*. Denne valideringen vil bli avsluttet i 2012. Vi har også startet validering av en kommersiell LPS-Elisa, og har utarbeidet prosjekt for etablering av subspecies-bestemmelse av *F.tularensis*, som planlegges gjennomført i løpet av 2012.

Rapportering

Resultat av prøveanalyser rapporteres til rekvirent, og til MSIS ved nye positive funn. Dersom praktisk mulig informeres rekvirent per telefon samme dag ved positivt funn. Det siste året har vi innhentet mer systematisk informasjon vedrørende type infeksjon, mistenkt smittested og smitemåte fra rekvirent. I tillegg skrives egen årsrapport fra referanselaboratoriet. I samarbeid med Folkehelseinstituttet ble harepest-utbruddet i Midt-Norge sist vinter rapportert i Eurosurveillance (7).

Informasjon og tilbakemelding

Informasjon om diagnostiske metoder ved referanselaboratoriet finnes tilgjengelig på Mikinfo og i Årsrapporter. Det arbeides også med å legge ut informasjon på avdelingens hjemmeside (<http://www.stolav.no/mikrobiologi>)

Kommentarer til funn

I 2011 har vi sett en kraftig økning i antall tilfeller av tularemi sammenlignet med tidligere år. Totalt ble 174 tilfeller påvist ved referanselaboratoriet, nesten tre ganger så mange tilfeller som i forrige toppår 2006 (Figur 1). Dette reflekteres i en nesten fire-dobling i antall analyser utført sammenlignet med 2010 (Tabell 1). Gjennom året ser det ut til å ha vært ulik geografisk fordeling, ulik smitemåte og derved også ulik klinisk presentasjon av sykdom. Første del av året var det hovedsakelig positive funn hos pasienter i Sør-Trøndelag, Nord-Trøndelag, og tilgrensende deler av Nordmøre og Hedmark. Klinisk presentasjon var hovedsaklig i form av orofaryngeal tularemi, og sannsynlig smitemåte forrenset drikkevann fra privat brønn (6). Dette ble sannsynliggjort hos pasienter med positivt funn gjennom telefonisk kontakt med de fleste rekvirenter, og ved påvisning av *F.tularensis*-DNA i flere aktuelle vannkilder. Senere på året er positive funn rapportert fra de fleste regioner av landet unntatt vestlandskysten, på slutten av året med flest tilfeller i Finnmark (Tabell 2). Som vanlig ble de fleste tilfellene diagnostisert ved serologi (143 pasienter), men mange tilfeller ble også påvist med PCR-metodikk (54 pasienter) og dyrkning (18 pasienter, Tabell 1).

Dyrkningsfunn ble gjort primært ved andre laboratorier enn referanselaboratoriet for 13 av pasientene (Oslo Universitetssykehus Ullevål og UNN 5 pasienter hver, Sykehuset Innlandet 2 pasienter, og Sykehuset Østfold 1 pasient). Dyrkningsprøvene var fra blodkultur (7 pasienter), biopsier (2 pasienter) og sår (9 pasienter). Funn av *F.tularensis* ved dyrkning utfordret smittevernrutinene ved flere laboratorier, fordi man i flere tilfeller arbeidet med kulturene på benk før en fikk mistanke om at det var en bakterie som tilhører smitteverngruppe 3. Det er viktig at laboratoriene har og følger retningslinjer for arbeid i laboratoriet som tar høyde for vekst av slike bakterier.

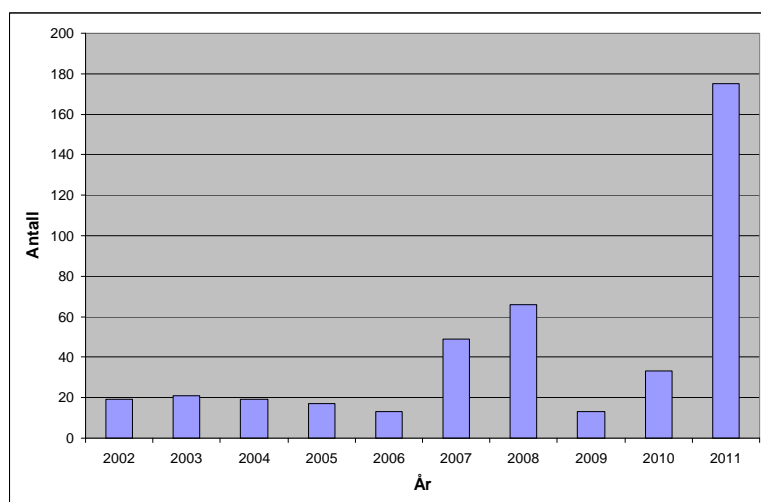
Bakteriestammer primært isolert ved andre laboratorier ble sendt til referanselaboratoriets stammebank i de fleste tilfeller. Enkelte laboratorier har imidlertid angitt at de har unnlatt å sende stammer på grunn av ekstra kostnader forbundet med kategori A forsendelse.

I løpet av året har referanselaboratoriet innledet samarbeid med Veterinærinstituttet, og har mottatt ca 20 *F.tularensis*-stammer isolert fra hare fra deres stammearkiv, og også en stamme av *F.philomiragia*.

Referanser

1. Bevanger L, Maeland JA, Naess AI. Competitive enzyme immunoassay for antibodies to a 43,000-molecular-weight *Francisella tularensis* outer membrane protein for the diagnosis of tularemia. J Clin Microbiol. 1989;27:922-6.
2. Sjöstedt A, Eriksson U, Berglund L, Tärnvik A. Detection of *Francisella tularensis* in ulcers of patients with tularemia by PCR. J Clin Microbiol. 1997;35:1045-8.
3. Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances 2009–2010.
http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/WHO_HSE_EPR_2008_10.pdf
4. Forsendelse av smittefarlig biologisk materiale. Praktisk veileder.
<http://dsb.no/Global/Publikasjoner/2008/Tema/BiologiskMaterialeWEB%20kortutgaven%20mai%202008.pdf>
5. Tomaso H, Scholz HC, Neubauer H, Al Dahouk S, Seibold E, Landt O, Forsman M, Splettstoesser WD. Real-time PCR using hybridization probes for the rapid and specific identification of *Francisella tularensis* subspecies tularensis. Mol Cell Probes. 2007;21:12-6.
6. Larssen KW, Afset JE, Heier BT, Krogh T, Handeland K, Vikøren T, Bergh K. Euro Surveill. 2011 Mar 31;16(13). pii: 19828. Outbreak of tularaemia in central Norway, January to March 2011.

Figur 1 Antall tilfeller meldt til MSIS i siste tiårsperiode



Tabell 1 Antall prøver analysert mht *F. tularensis* i 2011 ved referanselaboratoriet

	Serologi		PCR		Dyrkning		Alle metoder	
	2010	2011	2010	2011	2010	2011	2010	2011
Antall utførte analyser	1794	6919	91	503	70	214	1955	7636
Antall positive prøver	-	143	-	54	-	12	46	209
Funn av Francisella i vannfilter			0	9			0	9

Tabell 2 Geografisk fordeling i 2011

	Antall pasienter*	
	2010	2011
Østfold	1	5
Akershus	6	4
Oslo	1	6
Hedmark	5	10
Oppland	2	8
Buskerud	1	1
Vestfold	0	1
Telemark	0	-
Aust-Agder	0	6
Vest-Agder	2	2
Rogaland	0	1
Hordaland	0	1
Sogn og Fjordane	2	2
Møre og Romsdal	3	13
Sør-Trøndelag	5	42
Nord-Trøndelag	0	16
Nordland	2	8
Troms	3	4
Finnmark	0	45
Totalt	33	175

* Tall fra MSIS