

## ÅRSRAPPORT 2013

Nasjonalt referanselaboratorium for *Francisella tularensis*

### Bakgrunnsinformasjon

Helse Midt-Norge RHF ved St. Olavs Hospital HF ble tildelt nasjonal referansefunksjon for diagnostikk av *Francisella tularensis* i 2005, etter tidligere å ha utført denne type diagnostikk for rekvirenter fra hele landet fra 1980-årene. Arbeidet med referansefunksjonen er integrert i laboratoriet henholdsvis i Seksjon for virologi og genteknologi (serologiske og genteknologiske metoder), Seksjon for bakteriologi og prøvemottak (dyrkning og resistensbestemmelse) og Seksjon medisin.

### Påvisning

Til serologiske analyser benyttes både mikroagglutinasjonsmetodikk (helcelleantigen, in-house metode), Elisa for påvisning av spesifikt IgM og IgG (SERION ELISA classic *Francisella tularensis* IgG/IgM), og en immunkromatografisk hurtigtest (VIRapid@TULAREMIA, Vircell). I tillegg har vi en Western blot for påvisning av *F. tularensis* LPS IgG antistoffer (Seramun Anti-*Francisella tularensis* IgG). For molekylærdiagnostisk påvisning benyttes en in-house real-time PCR spesifikk for et 17-kDa lipoproteingen som finnes hos alle *F. tularensis* subspecies. Dyrkning utføres på sårsekret, aspirater og vevsprøver med bruk av Cystin Heart Agar med og uten antibiotika i tillegg til konvensjonelle medier. Vi har også metodikk for analyse av vannprøver fra drikkevann.

### Identifisering og verifisering av innsendte isolater

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

Pasientprøver som kan inneholde *F. tularensis* er i henhold til nasjonale og internasjonale retningslinjer for transport av infeksjøs materiale klassifisert som kategori B, mens bakterieisolater som anses suspekt på eller er sikkert identifisert som *F. tularensis* klassifiseres som kategori A (1), og må derfor sendes i henhold til retningslinjer for Forsendelse av smittefarlig biologisk materiale (2).

## Detaljkarakterisering

Vi benytter en publisert real-time PCR metode for å kunne skille isolater av *F. tularensis* subspecies *tularensis* fra andre subspecies (3).

## Resistensundersøkelser

Alle *F. tularensis*-stammer resistentstestes i henhold til anbefaling i ”WHO Guidelines on Tularemia” med brytningspunkter fra CLSI (4). Det er ikke etablert nasjonale retningslinjer for resistentesting av *F. tularensis* i Norge.

## Stammebanketablering

Vi har etablert stammebank for *F. tularensis* påvist hos mennesker hvor alle nye stammer oppbevares (totalt 32 isolater). I tillegg har vi ca 20 dyreisolater mottatt fra Veterinærinstituttet i Oslo. Vi har referansestammer for følgende *Francisella* species og subspecies tilgjengelig: *F. tularensis* subspecies *tularensis*, *F. tularensis* subspecies *holarctica*, *F. tularensis* subspecies *mediasiatica*, *F. novicida*, *F. philomiragia* og en fiskepatogen kalt *F. piscicida*.

## Kvalitetskontroll

Kvaliteten av de diagnostiske analyser kontrolleres ved positive og negative kontroller: eksternt kvalitets-kontrollprogram for PCR påvisning av *F. tularensis* (Instand e.V.), og samarbeider med Norrlands Universitetssjukhus, Umeå og SSI, København 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 vært få forespørsler om reagens- eller stammeforsyning til brukerlaboratorier.

## Metodeutvikling og forskning

Det har i løpet av året vært arbeidet med analyse av tularemiutbruddet av i 2011. Det planlegges en vitenskaplig publikasjon fra dette arbeidet. Vi har dessuten innledet samarbeid med Swedish Defence Research Agency, Umeå om analyse av kliniske isolater av *F. tularensis* isolert i løpet av 2011. Dette samarbeidet pågår fortsatt. I 2013 tok vi i bruk en Western blot analyse for *F. tularensis* LPS-IgG antistoffer (Seramun Anti-Francisella tularensis IgG). Denne analysen vil bli benyttet som alternativ test ved spesielle problemstillinger.

### **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. I de tilfeller hvor vi treffer rekvirent på telefon ber vi om informasjon vedrørende type infeksjon, mistenkt smittested og smittemåte fra rekvirent.

### **Informasjon og tilbakemelding**

Informasjon om diagnostiske metoder ved referanselaboratoriet finnes tilgjengelig på avdelingens hjemmeside (<http://www.stolav.no/mikrobiologi>) og på Mikinfo.

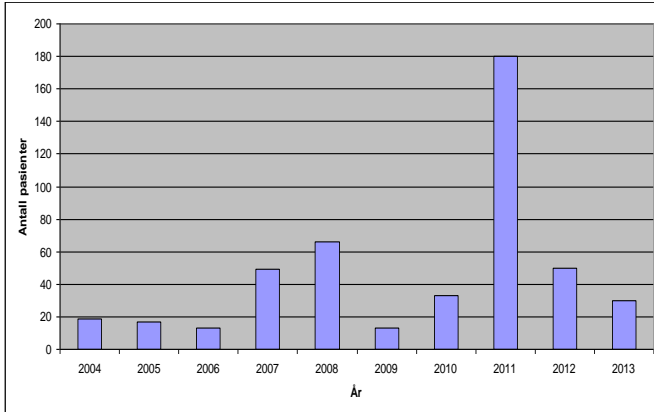
### **Kommentarer til funn**

I 2013 ble det meldt totalt 29 tilfeller med tularemi til MSIS. Alle tilfellene ble meldt fra referanselaboratoriet. Diagnosen tularemi stilt primært med dyrkning hos en pasient, ved PCR hos seks, og ved serologi hos 21 pasienter. Blant de sistnevnte ble det påvist serokonversjon hos seks av pasientene. Hos de 17 øvrige ble det konkludert med diagnosen tularemi basert på enkeltstående høyt tider sammen med typisk klinikk. Blant de 29 pasientene med tularemi hadde 13 glandulær eller ulceroglandulære type av tularemi og 6 pasienter hadde respiratorisk type. I tillegg hadde tre orofaryngeal type, og en hver henholdsvis oculoglandulær og tyfoidal type. For fire pasienter forelå det ikke tilstrekkelig informasjon for klassifisering. Ni av pasientene var innlagt i sykehus.

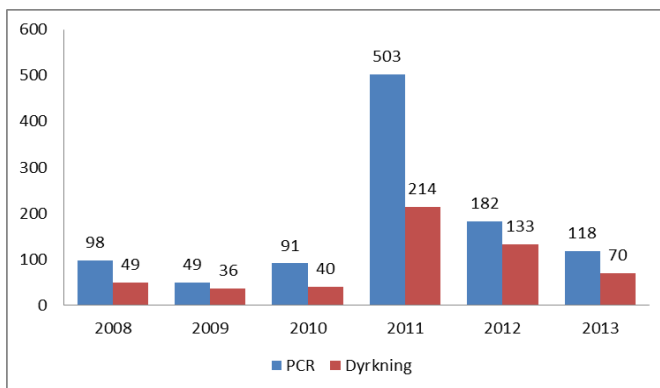
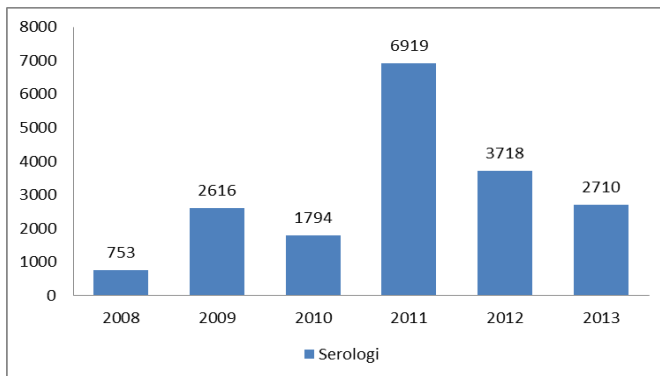
Som det framgår av Figur 1, 2a og b var det fortsatt fall i antall prøver og positive funn i forhold til 2011 hvor vi opplevde det største utbruddet i Norge i moderne tid, og også i forhold til fjoråret. Likevel var prøvetallet høyere enn de foregående årene. Trolig skyldes dette både økt oppmerksomhet som følge av utbruddet i 2011, samt at det også i

2012 var relativt mange tularemitilfeller (Figur 1). Som vanlig var det mest prøver til serologisk analyse, men også et betydelig antall prøver til PCR analyse (Figur 2a og b).

Figur 1 Antall tularemi-tilfeller meldt til MSIS i siste 10-års periode ([www.msis.no](http://www.msis.no))



Figur 2 a) Antall prøver, mottatt for a) serologisk analyse, b) PCR og dyrkning sammenlignet med tall fra tidligere år.



## Referanser

1. Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances 2013–2014.  
[http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/78075/1/WHO\\_HSE\\_GCR\\_2012.12\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/78075/1/WHO_HSE_GCR_2012.12_eng.pdf)
2. Forsendelse av smittefarlig biologisk materiale (Direktoratet for samfunnssikkerhet og beredskap).  
<http://www.dsb.no/no/Ansvarsomrader/Farlige-stoffer/Transport/Smittefarlig-stoff/>
5. Tomaso H, Scholz HC, Neubauer H, Al Dahouk S, Seibold E, Landt O, Forsman M, Spletstoeser 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. Appendix B1 Antimicrobial susceptibility (s81) i ”WHO Guidelines on Tularemia”, tilgjengelig via  
<http://mikrobiologi.fhi.no/no/Prosedyrer/Prosedyrebok/Francisella-tularensis-/F-tularensis---referanser-/>