

ÅRSRAPPORT 2009

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 (yttermembranproteinantigen) 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 parsera være viktig.

For PCR benyttes konvensjonell PCR-metodikk med 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.

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 og evt dyrkning.

Identifisering og verifisering av innsendte isolater

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

Pasientprøver som kan inneholde *F. tularensis* er i henhold til nasjonale og internasjonale retningslinjer for transport av infeksiosøst 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

Det er etablert real-time PCR metodikk 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, isoleres *F. tularensis* sjelden. Vi har derfor så langt ikke sett behov for etablering av metodikk for ytterligere genotyping ut over det som er beskrevet over.

Resistensundersøkelser

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

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

Stammebanketablering

Laboratoriet ønsker å etablere en stammebank av norske *F.tularensis*, men har så langt mottatt få isolater.

Kvalitetskontroll

Kvaliteten av de diagnostiske analyser kontrolleres ved positive og negative kontroller. Så vidt vi kjenner til finnes det ikke tilgjengelig eksterne kvalitetskontrollprogrammer for tularemi/ *F. tularensis*- diagnostikk.

Laboratoriet deltok ved "Tularaemia Wetlab Excercise" ved FOI (Swedish Defence Reserach Agency), Umeå, 23-25. juni 2009 arrangert av FOI for WHO. Formålet med møtet var at laboratorier fra ulike land som arbeider med tularemidagnostikk skulle møtes for å dele erfaringer, og sammenligne de ulike metodene som benyttes innen serologi, dyrkning og PCR. Alle deltakerlaboratoriene fikk i oppgave å analysere et sett av prøver som var forberedt av FOI. Erfaringer fra møtet og resultater fra "Wetlab excercise" er publisert i en rapport fra møtet (7). Vi fant ved anvendelse av våre rutinemetoder godt samsvar med forventede funn (se resultater for laboratorium G i rapporten).

Reagens- og stammeforsyning til brukerlaboratoriene

Det har så langt ikke vært ytret ønske om reagens- eller stammeforsyning til brukerlaboratorier.

Metodeutvikling og forskning

Det ble i 2009 ikke gjennomført prosjekter innen forskning eller metodeutvikling innen tularemidagnostikk ved laboratoriet.

Rapportering

Resultat av prøveanalyser rapporteres til rekvirent og MSIS (ved nye funn). Dersom praktisk mulig informeres rekvirent per telefon samme dag ved positivt funn. I tillegg skrives egen årsrapport fra referanselaboratoriet.

Informasjon og tilbakemelding

Informasjon om diagnostiske metoder ved referanselaboratoriet finnes tilgjengelig på Mikinfo og i Årsrapporter.

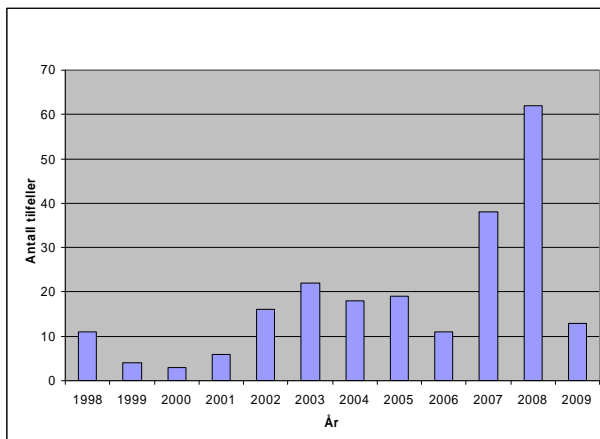
Kommentarer til funn

Tularemi ble påvist hos totalt 13 pasienter ved referanselaboratoriet i 2009 (Tabell 1). Dette er en betydelig reduksjon fra toppåret 2008. Som vanlig ble de fleste tilfellene ble diagnostisert ved serologi, mens et mindre antall ble påvist primært ved PCR-metodikk, og svært få tilfeller ved dyrkning (Tabell 1). Fylket med høyest antall tilfeller var Sør-Trøndelag (4 av 13 pasienter, Tabell 2). Deltakelsen ved Tularemia Wetlab exercise i Umeå var meget nyttig for å sammenligne kvaliteten av vår egen diagnostikk med det som gjøres ved andre tilsvarende laboratorier, og for å utveksle erfaringer med disse.

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. Sjøstedt 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. WHO Guidelines on Tularaemia. WHO 2007.
7. Report on the Tularaemia Wetlab Exercise: FOI, Umeå, Sweden, June 23-25, 2009. (tilgjengelig på forespørsel)

Figur 1 Antall tilfeller meldt til MSIS i siste tiårsperiode

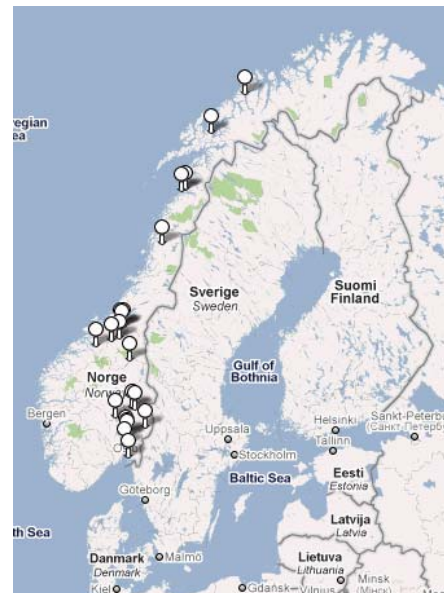


Tabell 1 Antall prøver analysert mht *F. tularensis* i 2009

	Serologi	PCR	Dyrkning	Alle metoder
Antall utførte analyser	2616	49	36	2701
Antall positive prøver	13	9	1	23
Antall pasienter meldt MSIS	11	1	1	13
Funn av Francisella i vannfilter		0	0	

Tabell 2 Geografisk fordeling i 2009

	Antall pasienter
Østfold	1
Akershus	0
Oslo	2
Hedmark	2
Oppland	0
Buskerud	1
Vestfold	0
Telemark	0
Aust-Agder	0
Vest-Agder	0
Rogaland	0
Hordaland	0
Sogn og Fjordane	0
Møre og Romsdal	0
Sør-Trøndelag	4
Nord-Trøndelag	0
Nordland	1
Troms	2
Finnmark	0
Totalt	13



Figur 2