

# ÅRSRAPPORT 2017

fra

Nasjonalt referanselaboratorium for  
*Streptococcus agalactiae*

## **Bakgrunnsinformasjon**

Helse Midt-Norge RHF ved St Olavs Hospital HF ble i 2005 tildelt nasjonal referansefunksjon for *Streptococcus agalactiae* (Gruppe B streptokokker, GBS). Før det hadde Avdeling for medisinsk mikrobiologi ved St. Olavs Hospital tilbudt diagnostikk og typing av GBS til andre mikrobiologiske laboratorier på kollegial basis siden 1980-årene. Arbeidet i forbindelse med referansefunksjonen utføres av en bioingeniør ansatt i hel stilling og en lege som medisinsk faglig ansvarlig.

## **Identifisering og verifisering av innsendte isolater**

Bakteriestammer mottatt til referanselaboratoriet dyrkes med standardmetoder og konfirmeres som GBS med PCR.

## **Genotyping**

Alle tilsendte GBS-stammer types for gener som koder for kapselpolysakkarid og stammevariable overflateproteiner med multiplex-PCR, og supplerende singel-PCR analyser ved behov (1). Laboratoriet har i tillegg in-house og kommersielle antisera mot alle ti kapseltyper og en rekke overflateproteiner til bruk i forskning og andre spesielle tilfelle (2).

## **Resistensbestemmelse**

Siden 2014 testes invasive *S. agalactiae* rutinemessig i regi av NORM for penicillin G, erythromycin, clindamycin, tetracycline, vancomycin og gentamycin (3).

## **Detaljkarakterisering**

Genotyping gjøres ved mistanke om utbrudd og for forskningsformål. Referanselaboratoriet kan tilby genotyping av GBS med flere metoder:

- 1) Multi-lokus sekvenstyping (MLST) er særlig egnet for fylogenetisk analyse og til andre forskningsformål (4).
- 2) Puls-felt gelelektroforese (PFGE) er egnet til genotyping ved mistanke om utbrudd og nosokomial smitte.
- 3) Metode for multi-locus variable number of tandem repeats assay (MLVA) er utviklet ved St Olavs Hospital/NTNU. Denne metoden gir meget god epidemiologisk oppløsning, og kan i stor grad erstatte PFGE i framtiden (5).

## **Stammebank**

Referanselaboratoriet har en stammebank der alle tilsendte isolater siden midten av 1990-tallet er arkivert. I tillegg inneholder stammesamlingen de viktigste internasjonale referansestammer og flere samlinger fra ulike forskningsprosjekter.

## **Kvalitetskontroll**

Avd. for medisinsk mikrobiologi er akkreditert i henhold til ISO 15189 (fra 2012). Avdelingen deltar i en rekke eksterne kvalitetskontrollprogram for diagnostikk og resistenstesting av bakterier, inkludert GBS. Det finnes ikke eksterne kvalitetskontrollprogram for genotyping av GBS, men laboratoriet har deltatt flere ganger i sammenligning av resultater av genotyping mellom europeiske referanselaboratorier. Kvaliteten av diagnostiske analyser kontrolleres ved positive og negative kontroller.

## **Reagens- og stammeforsyning til brukerlaboratoriene**

Det har så langt ikke vært ytret ønske om reagens- eller stammeforsyning fra noen av brukerlaboratoriene.

## **Metodeutvikling og forskning**

Det ble i 2017 ikke arbeidet med videreutvikling av metoder for diagnostikk og genotyping.

*Publikasjoner 2017:*

1. Gabrielsen C, Mæland JA\*, Lyng RV, Radtke A, Afset JE. Molecular characteristics of *Streptococcus agalactiae* strains deficient in alpha-like protein encoding genes. *J Med Microbiol.* 2017;66:26-33.

#### *Pågående forskningsprosjekter:*

- 1) Studie av forekomst av GBS i norske storfebesetninger, inkludert undersøkelse av forekomst av GBS hos bondefamilier. Prosjektet ledes av Veterinærinstituttet.
- 2) Molekylær basis for resistensmekanisme med uvanlig fenotypisk clindamycin og erytromycin resistensmønster.
- 3) Identifikasjon av genet som koder for overflateproteinet R3 hos GBS.
- 4) Undersøkelse av kliniske, fenotypiske og genotypiske karakteristikk av GBS isolater fra invasive infeksjoner hos voksne pasienter, doktorgrads prosjekt, Birgitta Ehrnström, lege på Medisinsk klinikk, Avdeling for Infeksjons sykdommer, St. Olavs Hospital.
- 5) Helgenomsekvensering og nærmere karakterisering av virulens faktorer av GBS isolater fra invasive infeksjoner, masterprosjekt, Torunn Gresdal Rønning, spesialbioingeniør på Avdeling for Medisinsk mikrobiologi, St. Olav Hospital.
- 6) Er infeksjoner rundt fødselen, spesielt med gruppe B streptokokker rundt fødselen assosiert med økt risiko for cerebral parese? Forskerlinjeprosjekt, medisinstudent Maren Mynarek.
- 7) Are characteristics of GBS bacteria associated with higher risk of stillbirth, neonatal mortality or Cerebral Palsy? Hovedoppgave i medisinstudiet, Maren Mynarek.

*\* Professor Johan A. Mæland gikk bort like før jul i 2017 83 år gammel. Han bidro gjennom mange år til forskning på GBS, med særlig vekt på identifikasjon og karakterisering av overflateproteiner. Helt til det siste var han aktivt med i forskningsaktiviteten ved referanselaboratoriet. Vi er han stor takk skyldig etter hans omfattende innsats innen dette forskningsfeltet.*

## **Rapportering**

Resultat av prøveanalyser rapporteres skriftlig til rekvirent. Ved utbrudd og ønske om hurtigere kommunikasjon med rekvirenten, formidles prøveresultat via telefon, i påvente av endelig skriftlig svar.

## **Informasjon og tilbakemelding**

Årsrapporter fra referanselaboratoriet finnes tilgjengelig på Mikinfo og via hjemmesiden til Avdeling for Medisinsk Mikrobiologi, St. Olavs Hospital (<https://stolav.no/fag-og-forskning/lab/nasjonalt-referanselaboratorium-gbs>).

## **Kommentarer til funn 2017**

### *Hovedpunkter*

1. I kontrast til en gradvis økning de siste årene, var det i 2017 en lett nedgang i antall mottatte isolater fra tilfeller med invasiv GBS infeksjon.
2. Det var nedgang i antall isolater i alle aldersgrupper unntatt spedbarn, og hos personer >70 år, hvor antall av innsendte stammer er fortsatt stigende. Antall isolater fra nyfødte og i spedbarnsalder (early-onset disease EOD og late-onset disease LOD) med invasiv GBS-infeksjon var uendret fra tidligere.
3. Det var i 2017 ikke noen vesentlig endring i forekomsten av ulike serotyper/ genotyper sammenlignet med tidligere år.
4. Forekomsten av resistens mot medikamentene clindamycin og erythromycin var ikke vesentlig forskjellig fra de senere årene.
5. I løpet av 2017 var det en forespørsel om genotyping på grunn av mistanke om smitte mellom nyfødte med GBS sykdom.

6. Referanselaboratoriet har de senere årene mottatt GBS-stammer fra flere pasienter med invasiv sykdom enn hva som er meldt til MSIS.

### **Generelt**

De 277 GBS stammene mottatt i 2017 var fra følgende materialer (antall isolater): blodkultur 232 (+ 9 isolater som kommer fra dobbelt innsending til samme pasient), spinalvæsker 3, autopsi 3, diverse vevsbiopsier 9, leddvæske 12, puss/sårsekret 1, andre diverse prøvematerialer 8.

Stammene var fra 235 unike pasienter med invasiv sykdom (blodkultur og/eller spinalvæske) (Tabell 1). Det ble i 2017 observert en nedgang i antall isolater fra invasive infeksjoner sammenlignet med at det var en gradvis økning med opptil 50% i antall stammer fra pasienter med invasiv sykdom i de siste årene. Referanselaboratoriet mottok hvert år flere stammer enn det som ble meldt til MSIS. I 2017 var det en betydelig mindre diskrepans mellom antall mottatte stammer til referanselaboratoriet og meldte til MSIS. I fjor mottok referanselaboratoriet stammer fra kun 5 pasienter flere enn det som ble registrert (230 pasienter) til MSIS. Til sammenligning var det større diskrepans i 2016, da referanselaboratoriet mottok stammer fra 42 flere pasienter enn det som ble meldt til MSIS. Fordi referanselaboratoriene ikke har tilgang til MSIS-data har det ikke vært mulig å undersøke hvilke tilfeller som eventuelt ikke er meldt til MSIS. Det representerer stadig et betydelig problem i utøvelsen av referanselaboratoriets pålagte oppgaver at vi ikke kan få samkjørt og kvalitetsikret våre data med data fra MSIS.

Antall tilfeller av invasive infeksjoner i 2017 fordelt på aldersgrupper viser et stabilt antall av GBS tilfeller hos spedbarn. Samtidig ble det registrert lavere antall invasive infeksjoner i alle alders grupper unntatt hos de over 70 år, hvor trenden er fortsatt stigende.

I 2017 var kapselserotype III, V, Ia og II (i fallende rekkefølge) hyppigst forekommende, omtrent som i 2015 og 2016 (Tabell 2). Andel invasive stammer med resistens overfor erytromycin og clindamycin var henholdsvis 23% og 15,3%. Det var ingen vesentlig endring i erytromycin-resistente stammer sammenlignet med 2015 (17,9%) og 2016 (17,1%). Andel av clindamycin resistente stammer holder seg stabilt i de siste årene (2016:12,6% og 2015:14 %).

### **GBS sykdom hos nyfødte**

I 2017 mottok vi stammer fra i alt 35 (2016:40; 2015:46) tilfeller av nyfødtsepsis, fordelt på 10 tilfeller med EOD og 25 med LOD. Det forelå opplysninger på mottatte rekvisisjoner om to dødsfall i LOD-gruppen. I tillegg mottok vi en stamme hvor det var opplysning om fosterdød. 17 (48,6%) av 35 isolater fra barn med invasiv GBS sykdom hadde kapseltype III (2016: 24 av 40 stammer; 2015: 30 av 46 stammer).

### **GBS sykdom hos voksne**

Forekomsten av invasiv sykdom på grunn av GBS hos voksne og eldre har steget jevnt over mange år. I 2017 var det imidlertid en nedgang i antall invasive isolater fra infeksjoner hos voksne (199 pasienter) sammenlignet med de siste årene (2016: 246; 2015: 216). Av 199 invasive infeksjoner hos voksne var 185 ikke relatert til graviditet eller fødsel. Vi mottok 14 isolater fra infeksjon i relasjon til svangerskap/fødsel/barsel i 2017, sammenlignet med 22 stammer i 2016 og 13 isolater i 2015. For isolater fra voksne var kapseltypene V og III hyppigst forekommende (henholdsvis 41 og 38), fulgt av Ia, IV og II. I denne gruppen har vi ingen opplysninger om dødsfall.

### **Antibiotikaresistens**

I samarbeid med NORM ble alle GBS isolater undersøkt med MIC-bestemmelse. Det ble ikke påvist nedsatt følsomhet for penicillin eller vankomycin. Resistens mot erytromycin ble funnet i 54 (23%) av 235 isolater fra invasive infeksjoner, noe høyere enn i 2016 (17,1%) og 2015 (17,9%). Det var ikke påvist intermediær følsomhet mot erytromycin hos noen av invasive isolater (2016: 4,6% ;

2015: 9%). Det er interessant at intermediært følsomhet var heller ikke påvist hos GBS isolater fra andre prøvematerialer som ble mottatt på referanselaboratoriet. Alle erytromycin resistente isolater var testet for MLS<sub>B</sub> resistens fenotype som indikerer tilstedeværelse av en *erm* determinant. Konstitutiv MLS<sub>B</sub> fenotype var dominerende med 37 isolater, mens induserbar MLS<sub>B</sub> fenotype var påvist hos 11 isolater. Resten av erytromycin isolater (6 isolater) hadde resistensmønster som er i samsvar med en efflux-mediert M fenotype kodet av *mef* genet. Resistens mot clindamycin ble funnet hos 35 av 235 invasive isolater (15,3%) og alle stammene unntatt én var resistente mot erytromycin (konstitutiv MLS<sub>B</sub> fenotype). To isolater med konstitutiv MLS<sub>B</sub> resistens hadde clindamycin MIC verdier på 0.5 mg/l (R > 0,5 mg/L) og er dermed ikke klassifisert som resistente, som forventet hos isolater med slik fenotype. Antall clindamycin-resistente isolater (15,3%) holder seg stabilt sammenlignet med 2016 (12,6%) og 2015 (14%).

Høygradig resistens (>256 mg/L) mot erytromycin og clindamycin ble funnet hos henholdsvis 13 og 22 stammer, alle med konstitutiv MLS<sub>B</sub> resistens-fenotype. Blant stammer resistente for både erytromycin og clindamycin (35 stammer med MLS<sub>B</sub> konstitutiv fenotype) var 11 isolert fra barn <1år.

**Tabell 1.** Totalt antall isolater mottatt ved referanselaboratoriet og antall pasienter med invasiv sykdom i siste 8-års periode, sammenlignet med antall tilfeller meldt til MSIS.

	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Totalt antall stammer mottatt	197	228	236	240	249	281	304	277
Antall pasienter med Invasiv sykdom*	176	203	217	225	235	262	288	235
Meldt MSIS	166	191	203	201	209	229	246	230

\* for enkelte pasienter ble det mottatt mer enn ett isolat

**Tabell 2:** Oversikt over invasive GBS stammer innsendt til referanselaboratoriet for GBS i 2017, totalantall og etter kapseltype, gruppert i henhold til kliniske opplysninger fra innsendende laboratorium.

	Kapseltype											SUM
	Ia	Ib	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	NT	
<b>Barn &lt;1år og foster</b>												
Early onset disease (EOD, 0-6 dager)	4			4		2						10
Late onset disease (LOD, 7-89 dager)	5	5	1	13		1						25
Fosterdød			1									1
<b>Voksne og barn&gt;1 år</b>												
Ikke relatert til graviditet /fødsel	28	18	24	33	26	38	4	0	3	11	0	185
Relatert til graviditet/fødsel	4	0	2	5		3						14
<b>Totalt</b>	41	23	28	55	26	44	4	0	3	11	0	235

## Referanser

1. Creti et al. Multiplex PCR Assay for Direct Identification of Group B Streptococcal Alpha-Protein-Like Protein Genes. *J Clin Microbiol*, 2004, March, pp. 1326–1329 Vol. 42, No. 3
2. Imperi et al. A multiplex PCR assay for the direct identification of the capsular type (Ia to IX) of *Streptococcus agalactiae*. 2010. *J Microbiol Methods*, 80: pp. 212–214
3. <https://unn.no/fag-og-forskning/norm-norsk-overvakingssystem-for-antibiotikaresistens-hos-mikrober>
4. Jones et al. Multilocus Sequence Typing System for Group B Streptococcus. *J Clin Microbiol*, 2003, June, pp. 2530–2536 Vol. 41, No. 6
5. Radtke et al. Rapid Multiple-Locus Variant-Repeat Assay (MLVA) for Genotyping of *Streptococcus agalactiae*. *J Clin Microbiol*, 2010, July, pp. 2502–2508