

ÅRSRAPPORT 2014

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), en immunkromatografisk hurtigtest (VIRapid@TULAREMIA, Vircell) samt IgG western blot (Serablot® Anti-*Francisella tularensis*). 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 infeksiosøst 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 transport av mikroorganismer innen Kategori A (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 resistentstestet i henhold til anbefaling i ”WHO Guidelines on Tularemia” med brytningspunkter fra CLSI (4). Det er ikke etablert nasjonale retningslinjer for resistentstesting av *F.tularensis* i Norge.

Stammebanketablering

Vi har etablert stammebank for *F.tularensis* påvist hos mennesker hvor alle nye stammer oppbevares (totalt 35 kliniske isolater). I tillegg har vi ca 20 dyreisolater mottatt fra Veterinærinstituttet i Oslo. Vi har også fått referansestammer fra Forsvarets mikrobiologiske forskningsinstitutt, Umeå, Sverige, og har kjøpt stammer fra CCUG, slik at vi nå 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 ekstern 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

Vi har i år fått forespørsel om stammer til metodeutprøving ved et annet laboratorium, og planlegger å sende slike stammer i løpet av 2015. Et laboratorium har informert at de planlegger å etablere serologisk analyse for *F.tularensis* antistoffer på grunn av økt prøvevolum lokalt.

Metodeutvikling og forskning

I løpet av året har vi i samarbeid med FHI publisert data fra utbruddet i 2011 (5). Vi har deltatt i et prosjekt veterinærinstituttet om serologisk analyse av sera fra syke og friske hunder (6), og med forsvarrets mikrobiologiske forskningsinstitutt (Swedish Defence Reserach Agency) i Umeå, Sverige om genomsekvensering av *F.tularensis*-stammene som ble dyrket fra pasienter med tularemi i 2011 (7).

Rapportering

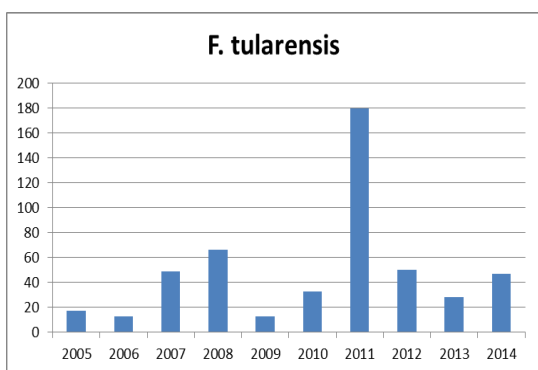
Resultat av prøveanalyser rapporteres til rekvirent, og til MSIS ved nye positive funn. Dersom praktisk mulig informeres rekvirent per telefon samme dag ved positivt funn. I de tilfeller hvor vi treffer rekvirent på telefon ber vi om informasjon vedrørende type infeksjon, mistenkt smittested og smitemåte fra rekvirent.

Informasjon og tilbakemelding

Informasjon om diagnostiske metoder ved referanselaboratoriet finnes tilgjengelig på avdelingens hjemmeside (<http://www.stolav.no/mikrobiologi>) og på Mikinfo, hvor omtalen av tularemi ble oppdatert i løpet av 2014.

Kommentarer til funn

Av totalt 47 tilfeller med tularemi meldt til MSIS i 2014 (Figur 1), ble 39 diagnostisert ved referanselaboratoriet. Av disse ble 27 kun påvist ved serologisk diagnostikk (hovedsakelig med høyt agglutinasjonstiter i enkeltprøve, serokonversjon hos to pasienter), mens tre ble påvist ved dyrkning, og 12 ble påvist ved PCR (4 av disse kun med PCR). Alle kulturer ble påvist fra blodkultur, to av disse ved andre laboratorier. Antall prøver tilsendt for tularemidagnostikk var nærmest uendret fra året før (Tabell 1).



Figur 1. Antall tularemi-tilfeller meldt til MSIS i siste 10-års periode

Tabell 1 Antall prøver analysert sammenlignet med tall fra foregående år.

	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Serologi	754	399	574	2187	1169	830	856
PCR	98	47	92	488	177	116	116
Dyrkning	49	35	70	214	133	70	61
Totalt	901	481	734	2889	1479	1016	1033

Referanser

1. Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances 2009–2010.
http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/78075/1/WHO_HSE_GCR_2012.12_eng.pdf
2. Forsendelse av smittefarlig biologisk materiale. Praktisk veileder.
<http://www.dsb.no/Global/Publikasjoner/2008/Tema/BiologiskMaterialeWEB%20kortutgaven%20mai%202008.pdf>
3. 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.
4. Appendix B1 Antimicrobial susceptibility (s81) i ”WHO Guidelines on Tularemia”, tilgjengelig via <http://mikrobiologi.fhi.no/no/Prosedyrer/Prosedyrebok/Francisella-tularensis-/F-tularensis---referanser/>
5. Larssen KW, Bergh K, Heier BT, Vold L, Afset JE. All-time high tularaemia incidence in Norway in 2011: report from the national surveillance. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2014 Nov;33(11):1919-26.
6. Nordstoga A, Handeland K, Johansen TB, Iversen L, Gavier-Widén D, Mattsson R, Wik-Larssen K, Afset JE, Næverdahl R, Lund A. Tularaemia in Norwegian dogs. Vet Microbiol. 2014 Oct 10;173(3-4):318-22.
7. Afset JE, Larsen KW, Bergh K, Lärkeryd A, Sjödin A, Johansson A, Forsman M. Phylogeographic pattern of *Francisella tularensis* in a nationwide outbreak of tularaemia in Norway. Eurosurveillance, akseptert for publisering.