

ÅRSRAPPORT 2013

fra

Nasjonalt referanselaboratorium for
Streptococcus agalactiae

Bakgrunnsinformasjon

Helse Midt-Norge RHF ved St Olavs Hospital HF ble tildelt nasjonal referansefunksjon for diagnostikk av *Streptococcus agalactiae* i 2005. Før det hadde Avdeling for medisinsk mikrobiologi ved St. Olavs utført denne type diagnostikk for mikrobiologiske laboratorier fra hele landet siden 1980-årene. Laboratoriet benytter i dag PCR baserte metoder for rutinetypingen. Tilleggsmetoder som kan brukes er serologisk typing, MLST, PFGE og MLVA. Arbeidet i forbindelse med referansefunksjonen utføres av en bioingeniør som er ansatt for virksomheten i hel stilling (Randi Valsø Lyng), en bioingeniør i delstilling (Bjørn Skjøtskift) og en lege som faglig ansvarlig (Andreas Radtke).

Rutinetypingen

Tilsendte GBS stammer types for kapselpolysaccharid og stammevariable overflateproteiner. For begge markører bruker vi multiplex-PCR og supplerende single-PCR. Antiserer mot alle ti kapseltyper og proteinene er tilgjengelig som tilleggsmetoder.

Resistensbestemmelse

Referanselaboratoriet undersøker alle tilsendte stammer for resistens mot erytromycin og klindamycin med lappeteknikk til og med utgang 2013. Lappene blir plassert slik at induert klindamycinresistens oppdages. Invasive stammer fra årene 2006, 2009 og 2012 ble også undersøkt med e-tester etter nærmere avtale med Norsk overvåkingssystem for antibiotika-resistens hos mikrober, NORM. Fra 2014 vil invasive *S. agalactiae* inngå rutinemessig i NORM.

Detaljkarakterisering

Referanselaboratoriet kan tilby utvidet typing av GBS med forskjellige metoder.

- Multi-lokus sekvenstyping (MLST): basert på sju GBS husholdningsgener. Internasjonal anerkjent referansemetode, særlig egnet for å følge fylogenetiske grupper og forskning.
- Pulsfeltgelelektroforese (PFGE): Basert på makrorestriksjon av bakterigenomet. Veldig god teknikk for å oppklare utbrudd og nosokomial smitte.
- Multi-locus variable number of tandem repeats assay (MLVA): Metode som gir veldig god epidemiologisk oppløsning og vil bli brukt isteden for PFGE i tiden fremover.

Stammebank

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

Kvalitetskontroll

Kvaliteten av de diagnostiske analyser kontrolleres ved positive og negative kontroller. Så vidt vi kjenner til finnes det ingen tilgjengelige eksterne kvalitetskontrollprogrammer for GBS typing.

På grunn av noen feilinnsendte stammer ble 3 ulike agglutinasjonskit for Lancefieldgruppering utprøvd. Stammene ble dyrket på Columbia- og blodagar og testet etter 24 og 48 timer. Disse stammene ble undersøkt: *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. massiliensis*, *S. oralis* og *S. dys. equisimilis*. Reaksjoner var stort sett like gode fra blod og columbiaagar og det var ingen forskjell på inkubering 24 og 48 timer. To kit ga kryssreaksjon B og G ved agglutinerings av *S. massiliensis*, mens det tredje ga reaksjon kun for B. Ved agglutinerings med B bør G brukes som negativ kontroll for å oppdage *S. massiliensis*.

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 2013 ikke gjort noe videreutvikling av metoder.

Pågående forskningsprosjekter:

- Referanselaboratoriet bistod i forskning rundt overflateproteiner ved å gjennomføre typeringer og utvidet testing av stammer, blant annet med Western-Blot teknikk.
- Vi samarbeider fortsatt med et PhD prosjekt ved Oslo Universitetssykehus-Ullevål i detaljkarakteriseringen av norske bærerstammer.
- Et større masterprosjekt med mål å finne gensekvens til to typer overflateproteiner er underveis.
- En PhD student fra Nepal opplært i PCR teknikker for typing av GBS.
- Referanselaboratoriet deltar i et prosjekt om forekomsten av GBS i norske storfebesetninger i samarbeid med Veterinærinstituttet ble startet.

Rapportering

Resultat av prøveanalyser rapporteres til rekvirent. Det skrives egen årsrapport fra referanselaboratoriet.

Informasjon og tilbakemelding

Årsrapporter fra referanselaboratoriet finnes tilgjengelig på Mikinfo og via Avdeling for Mediskinsk Mikrobiologi, St. Olavs Hospitals hjemmesider (<http://www.stolav.no/mikrobiologi/>).

Kommentarer til typingen 2013

Hovedpunktene

- Laboratoriet mottok i 2013 i alt 240 stammer fra 230 pasienter.
- Laboratoriet mottok stammer fra 225 (2012:217) unike tilfeller med invasiv sykdom.
- Etter at det var rekordmange stammer med resistens mot erytromycin og klindamycin i 2012 har dette steget enda mer og henholdsvis 16,3% og 13,9% av stammene er resistent.
- Våre data blir ikke sammenholdt med MSIS data, særlig opplysninger om dødsfall er derfor usikre.

Generelt

I 2013 fikk vi tilsendt 240 stammer til undersøkelse, igjen en lett økning fra fjorårets rekord. Stammene var fra 225 unike tilfeller med invasiv sykdom (blodkultur eller spinalvæske), derav 46 fra barn <1år. De øvrige stammer fordeler seg på ulike materialer, deriblant leddvæske, vev, vaginalprøve fra mødre til GBS syke nyfødte og abortmateriale samt flere prøver fra en pasient.

Invasiv GBS sykdom skal meldes til MSIS og der det er registrert 201 tilfeller for 2013, derav 41 barn <1år. Dette vurderes som fortsatt god overensstemmelse i materialene. Som vanlig de siste årene har vi fått tilsendt flere invasive stammer enn antall tilfeller meldt til MSIS.

I år er kapselserotype III, V, Ia, II og IV (i fallende rekkefølge) de viktigste typene. Andel stammer med resistens overfor erytro- eller/og klindamycin fortsetter å stige og er nå oppe i 16,3 og 13,9 % av de mottatte stammene.

I karakteriseringen av proteiner skiller vi vanligvis skiller ikke mellom det sjeldne *alp2* og det vanlige *alp3* genet. I 2013 undersøkte vi med single PCR for de to og fant at andelene var som forventet med henholdsvis 2 og 43 funn.

Nyfødte

I 2013 har vi fått stammer fra i alt 46 (2012: 51) tilfeller av nyfødtsepsis, som fordelte seg til 27 (27) tilfeller av early-onset disease (EOD), og 19 (24) med late-onset disease (LOD). Det foreligger opplysninger om to dødsfall i EOD gruppen. Vi mottok også materiale fra to aborter.

Kapseltypene har i 2013 fordelt seg etter vanlig mønster for nyfødtsykdom der 28 type III stammer står for 60 % av nyfødtsykdom fulgt av type Ia.

GBS sykdom hos voksne

Forekomsten av invasiv sykdom på grunn av GBS hos voksne har steget langsomt, men sikkert over lang tid. I 2013 kunne 160 isolater tilordnes denne kategorien (2012: 167), en lett nedgang. Hos åtte av disse forela informasjon om assosiasjon til svangerskap/fødsel/barsel. Som vanlig var kapseltype V hyppigst fulgt av III, Ia, II og IV i fallende rekkefølge. I denne gruppen har vi opplysninger om ett dødsfall.

Oppsummerende tabell

Tabell 1: Tabellarisk oversikt over GBS stammer 2013, totalantall og etter kapseltype. Inndeling etter kliniske opplysninger fra innsendende laboratorium.

GBS typing 2013, tabellarisk oversikt	Ia	Ib	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	NT*	SUM
Kapseltype												
Alle stammer												
<i>Invasive isolater (blodkultur eller spinalvæske)</i>												
Total	35	13	29	67	26	50	2		1	3		226
derav barn <1år	9	2	3	28	1	3						46
<i>Isolater relatert til graviditet/fødsel</i>												
EOD	5		2	16	1	3						27
LOD	4	2	1	12								19
Fosterdød						2						1
derav steril materiale												0
sepsis hos mor under graviditet/fødsel			3	2	2	1						8

*NT=non-typable

Resistens

I 2013 var 39 av de GBS 240 stammene resistent mot erytromycin (16,3%) og 32 mot klindamycin (13,3%). I tillegg har 8 stammer intermediær erytromycinfølsomhet. Høygradig resistens fant vi hos 24 stammer hver. Dette er igjen en økning i forhold til i fjor (13,9% erytromycin resistens). Den store andelen høyresistente klindamycin stammer er bekymringsverdig. 18 stammer viste blunting fenomenet mot 6 i fjor. Fem resistente stammer kom fra barn <1år. Undersøkelsen baserer seg på lappeteknikk.

Publikasjoner i 2013

Artikler

Maeland JA, Radtke A, Lyng RV, Mavenyengwa RT. Novel aspects of the Z and R3 antigens of *Streptococcus agalactiae* revealed by immunological testing. *Clin Vaccine Immunol.* 2013; 20(4):607-12.

Maeland JA, Radtke A. Comparison of Z and R3 antigen expression and of genes encoding other antigenic markers in invasive human and bovine *Streptococcus agalactiae* strains from Norway. *Vet Microbiol.* 2013; 167(3-4):729-33.

Foredrag

Randi Valsø Lyng. The role of the National Reference Laboratory for group B streptococcus in Norway NML Congress 2013, Trondheim

A. Radtke. Gruppe B Streptokokker (GBS) i Norge 2006-2012. 6. des. 2013. Årskonferansen, Folkehelseinstitutt.