

ÅRSRAPPORT 2020

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 spesialbioingeniør ansatt i hel stilling og en overlege 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).
- 4) Helgenomsekvensering.

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

Fra 2019 blir alle stammer fra barn < 1 år karakterisert ved helgenomsekvensering. Også stammer fra 2018 er nå karakterisert med denne metoden.

Publikasjoner 2020:

- 1) Mynarek M, Bjellmo S, Lydersen S, Afset JE, Andersen GL, Vik T. Incidence of invasive Group B Streptococcal infection and the risk of infant death and cerebral palsy: a Norwegian Cohort Study. *Pediatr Res.* 2020, doi: 10.1038/s41390-020-1092-2.
- 2) Adelle Basson, Elucidating the gene R3 surface protein in *Streptococcus agalactiae*. Mastergrad i molekylær medisin, IKOM, NTNU.
- 3) Sveinung Javnes. *Streptococcus agalactiae* – systemisk infeksjon hos voksne: Karakterisering av polysakkaridkapsel. Hovedoppgave i medisinstudiet, IKOM, NTNU.

Pågående forskningsprosjekter:

- 1) Molekylær basis for resistensmekanisme med uvanlig fenotypisk clindamycin og erytromycin resistensmønster.
- 2) Forberedelse av manuskript til artikkel om utbrudd på Nyfødt intensiv avdeling ved Ullevål sykehus i desember 2017- januar 2018. Samarbeidsprosjekt mellom Ullevål sykehus og GBS referanse laboratorium.
- 3) Forskerlinjeprosjekt Elise Uggen: *Streptococcus agalactiae* - systemic infection in adults
- 4) PhD prosjekt, Maren Mynarek: Are specific genetic characteristics of group B streptococci (GBS) associated with higher risk of neonatal mortality or neurodevelopmental disorders?
- 5) Gruppe B streptokokk infeksjon hos nyfødte-antistoffnivå hos mor og i navlesnorsblod. Prosjektleder prof. Claus Klingenberg, UNN. Samarbeidspartner ved St. Olavs hospital, prof/overlege Jan Egil Afset.

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 2020

Hovedpunkter

1. I 2020 var antall mottatte isolater fra tilfeller med invasiv GBS infeksjon stabilt høyt sammenlignet med foregående år.
 - a. Det var et stabilt antall invasive isolater fra spedbarn både med hensyn på «early-onset disease» (EOD) og «late-onset disease» (LOD).
 - b. Det var også stabilt antall innsendte invasive isolater fra voksne.
2. Det var i 2020 ikke noen vesentlig endring i forekomsten av ulike serotyper/ genotyper sammenlignet med tidligere år.
3. Forekomsten av resistens mot medikamentene clindamycin og erytromycin var ikke vesentlig forskjellig fra de senere årene.
4. Referanselaboratoriet har i løpet av dette året mottatt høyere antall GBS-stammer isolert fra pasienter med invasive infeksjoner enn det som var meldt til MSIS.

Generelt

De 331 GBS stammene som ble mottatt i 2020 var fra følgende materialer (antall isolater): blodkultur 304 (inkludert 2 isolater som kommer fra dobbelt innsending), spinalvæske 2 (hvor begge to pasienter hadde samme funn i blodkultur), diverse biopsier/vev 3, leddvæske/bursavæske 11, andre diverse prøvematerialer (abscess, ascites, lårveneblood, nasopharynx, aspirat – ikke fra uterus):11. Det ble ikke mottatt autopsimateriale i løpet av dette året.

302 stammer var mottatt fra 295 unike pasienter med invasiv sykdom, isolert fra 302 unike bakteriemiepisoder (7 pasienter hadde 2 unike bakteriemiepisoder) og 2 spinalvæsker med samme funn i blodkultur (Tabell 1).

Det ble i 2020 observert en stabilisering av antall isolater fra invasive infeksjoner sammenlignet med året 2019, men fortsatt en gradvis økning i antall stammer fra pasienter med invasiv sykdom i forhold til de siste årene. Referanselaboratoriet har hvert år mottatt flere stammer enn det som ble meldt til MSIS. I 2020 var den trenden fortsatt merkbar med høyere antall mottatte stammer fra invasive infeksjoner (302 unike blodkulturer og 2 spinalvæsker) til referanselaboratoriet vs 283 meldte tilfeller til MSIS. Fordi referanselaboratoriene ikke har tilgang til MSIS-data har det ikke vært mulig å undersøke hvilke sykdomsepisoder der er diskrepans mellom referanselaboratoriet og MSIS. **Det representerer stadig et betydelig problem i utøvelsen av referanselaboratoriets pålagte oppgaver at vi ikke kan få samkjørt og kvalitetssikret våre data med data fra MSIS.**

Antall tilfeller av invasive infeksjoner i 2020 fordelt på aldersgrupper er fortsatt stabilt. Antall GBS-tilfeller hos spedbarn var 32, som er tilsvarende det som ble registrert i 2019 (30) og 2018 (30), og noe lavere i forhold til tallene fra 2017 (35). Det ble registrert et stabilt antall invasive infeksjoner i alle aldersgrupper av voksne pasienter (270) i forhold til tallet fra 2019 (270), men det er økning sammenlignet med tallene fra 2018 og 2017 (henholdsvis 237 og 199 tilfeller).

I 2020 var kapselserotype Ia og III hyppigst forekommende, etterfulgt med V, Ib og IV (i fallende rekkefølge) (Tabell 2). Andel invasive stammer med resistens overfor erytromycin og clindamycin var henholdsvis 19,2% og 12,2%. Det var ingen vesentlig endring i andel erytromycin-resistente stammer sammenlignet med 2019 (25,2%) og 2018 (22,2%). Andelen av clindamycin-resistente stammer har holdt seg stabil i de siste årene (2019: 12,9%; 2018:12%).

GBS sykdom hos nyfødte

I 2020 mottok vi stammer fra i alt 32 (2019:30; 2018:30; 2017:35) tilfeller av nyfødtsepsis, fordelt på 15 tilfeller med EOD og 17 med LOD. Det var ikke meldt noen dødsfall blant nyfødte i løpet av 2020.

22(68,7%) av de 32 stammene hadde kapseltype III (2019:19 av 30; 2018: 15 av 30; 2017: 17 av 35 stammer).

GBS sykdom hos voksne

Forekomsten av invasiv sykdom med GBS hos voksne og eldre har steget jevnt over mange år. Antall invasive GBS isolater i 2020 fra infeksjoner hos voksne (270 pasienter) viste en stabilisering i forhold til 2019 (270), men fortsatt økning i forhold til antall fra 2018 (237) og 2017 (199) pasienter. Dette var imidlertid kun et lett fall i 2017, sammenlignet med de siste årene (2016: 246; 2015: 216). Av 270 invasive infeksjoner hos voksne var 255 ikke relatert til graviditet eller fødsel. Vi mottok 15 stammer isolert fra infeksjon i relasjon til svangerskap/fødsel/barsel i 2020, sammenlignet med 13 isolater fra 2019 og 8 isolater fra 2018.

For isolater fra voksne var kapseltypene Ia og V hyppigst forekommende (henholdsvis 59 og 56), fulgt av kapseltype III (41), Ib (33), og IV (32). I denne gruppen har vi ikke opplysninger om dødsfall.

Antibiotikaresistens

I samarbeid med NORM ble alle GBS-isolater undersøkt med MIC-bestemmelse for utvalgte antibiotika. Det ble ikke påvist nedsatt følsomhet for penicillin eller vankomycin. Resistens mot erytromycin ble funnet i 58 (19,2%) av 302 stammer fra blodkultur og spinalvæske, som er i det vesentlige uendret fra 2019:76 (25,2%), 2018:59 (22,2%) og 2017:54 (23%). Det ble ikke påvist intermediær følsomhet mot erytromycin hos noen invasive isolater, tilsvarende som i de siste årene. Alle erytromycin-resistente isolater ble testet for MLS_B resistens fenotype. Blant erytromycin resistente isolater var konstitutiv MLS_B fenotype vanligst (44 stammer), mens induserbar MLS_B fenotype ble påvist kun i 6 stammer (sammenlignet med 2019, da 21 stammer fikk påvist induserbar MLS_B fenotype). Høygradig resistens mot både erytromycin og clindamycin (≥ 256 mg/L) ble påvist hos 14 stammer, alle med konstitutiv MLS_B resistens fenotype, som var også en nedgang i forhold til 2019 (23 stammer). Resten av erytromycinresistente isolater (8 stammer) hadde resistensmønster som var i samsvar med en efflux-mediert M fenotype, på lik nivå sammenlignet med 2019 (6 stammer). Resistens mot clindamycin ble funnet hos 37 (12,2%) av 302 invasive stammer og alle stammene unntatt én var resistente mot erytromycin (konstitutiv MLS_B fenotype). Antall clindamycin-resistente isolater (12,2%) holder seg stabilt sammenlignet med 2019 (12,9%), 2018 (12,03%) og 2017 (15,3%).

Blant stammer resistente for både erytromycin og clindamycin (40 stammer med MLS_B konstitutiv fenotype) var 6 isolert fra barn <1år.

Tabell 1. Antall isolater (totalt og invasive) mottatt ved referanselaboratoriet i siste 9-års periode, sammenlignet med antall tilfeller meldt til MSIS.

	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020
Totalt antall stammer mottatt	197	228	236	240	249	281	304	277	328	341	302
Antall pasienter med invasiv sykdom *	176	203	217	225	235	262	288	235	267	300	295
Meldt MSIS	166	191	203	201	209	229	246	230	259	315	283

* for enkelte pasienter ble det mottatt mer enn ett isolat

Tabell 2: Oversikt over invasive GBS stammer innsendt til referanselaboratoriet for GBS i 2020, totalt antall 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	
Barn <1år og foster												32
Early onset disease (EOD, 0-6 dager)	3		2	8	1	1						15
Late onset disease (LOD, 7-89 dager)	1	1		14	1							17
Fosterdød												
Voksne og barn >1 år												270
Ikke relatert til graviditet /fødsel	55	32	26	39	31	54	3	1	3	10	1	255
Relatert til graviditet/fødsel	4	1	4	2	1	2				1		15
Totalt	63	34	32	63	34	57	3	1	3	11	1	302

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