

ÅRSRAPPORT 2018

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) multi-locus variable number of tandem repeats assay (MLVA) (5) og 4) helgenomsekvensering med Illumina-teknologi. Bioinformatiker tilsatt ved avdelingen har utviklet en bioinformatisk pipeline for automatisert assembly og analyse av GBS-genomsekvenser.

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 ytre ønske om reagens- eller stammeforsyning fra noen av brukerlaboratoriene.

Metodeutvikling og forskning

Det ble i 2018 arbeidet med videreutvikling av metoder for genotyping ved helgenomsekvensering. Målet var at alle GBS isolater fra invasive nyfødte infeksjoner skulle genotypes med helgenomsekvensering fra januar 2019, inkludert stammer fra 2018.

Publikasjoner 2018:

Poster presentasjon på NSCMID 2018, Island: Maren Mynarek, Torstein Vik, Jan Egil Afset: «Early infection with group B streptococcus and the risk of death and cerebral palsy» From Department of Clinical and Molecular Medicine, The Faculty of Medicine and health sciences, Norwegian University of Science and Technology, Trondheim, Norway

Pågående forskningsprosjekter:

- 1) Molekylær basis for resistensmekanisme med uvanlig fenotypisk clindamycin og erytromycin resistensmønster.
- 2) Identifikasjon av genet som koder for overflateproteinet R3 hos GBS.
- 3) 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.
- 4) Helgenomsekvensering og nærmere karakterisering av virulens faktorer av GBS isolater fra invasive infeksjoner, masterprosjekt, Torunn Gresdal Rønning, bioingeniør på Avdeling for Medisinsk mikrobiologi, St. Olav Hospital.
- 5) Er infeksjoner rundt fødselen, spesielt med gruppe B streptokokker assosiert med økt risiko for cerebral parese? Forskerlinjeprosjekt, medisinstudent Maren Mynarek.
- 6) Undersøkelse av utbrudd på Nyfødt intensiv avdeling ved Ullevål sykehus i desember 2017-januar 2018. Samarbeidsprosjekt mellom Ullevål sykehus og GBS referanse laboratoriet. Poster presentasjon: «A nosocomial outbreak of group B streptococcus serotype Ib causing sepsis in the neonatal intensive care unit» er akseptert til 29th ECCMID kongress i Amsterdam, april 2019.

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://sto.lav.no/fag-og-forskning/lab/nasjonalt-referanselaboratorium-gbs>).

Kommentarer til funn 2018

Hovedpunkter

1. I 2018 fortsetter en gradvis økning i antall mottatte isolater fra tilfeller med invasiv GBS infeksjon.
2. Antall isolater fra nyfødte og i spedbarnsalder (early-onset disease EOD og late-onset disease LOD) med invasiv GBS-infeksjon var litt lavere enn de siste årene.
3. Antall innsendte isolater fra voksne er fortsatt stigende.
4. Det var i 2018 ikke noen vesentlig endring i forekomsten av ulike serotyper/ genotyper sammenlignet med tidligere år.
5. Forekomsten av resistens mot medikamentene clindamycin og erytromycin var ikke vesentlig forskjellig fra de senere årene.
6. I løpet av januar og februar 2018 ble det foretatt en omfattende screening på grunn av mistanke om utbrudd med GBS infeksjon blant nyfødte på Nyfødtintensiv-avdelingen ved Ullevål sykehus.
7. Referanselaboratoriet har de senere årene mottatt GBS-stammer fra flere pasienter med invasiv sykdom enn hva som er meldt til MSIS.

Generelt

De 328 GBS stammene mottatt i 2018 var fra følgende materialer (antall isolater): blodkultur 266 (+ 4 isolater som kommer fra dobbelt innsending til samme pasient), spinalvæsker 3 (alle pasienter har likt funn i blodkultur), autopsi 1 (pericardvæske), diverse vevsbiopsier 11 (+ 1 duplikat fra samme pasient), leddvæske 8, placenta 4, andre diverse prøvematerialer (peritonealvæske, sårsekret osv) 9 og screenings prøver fra utbrudd (hals, perineum, navle, vaginalsekret) 10 (+11 isolater fra ulike lokalisasjoner fra samme pasient).

Stammene var fra 268 unike pasienter med invasiv sykdom: isolerte fra 266 positive blodkulturer og 3 spinalvæsker (med likt funn i blodkultur), samt en stamme fra invasiv sykdom isolert fra autopsi tatt fra pericardvæske (Tabell 1). Det var meldt i tillegg et dødsfall fra nyfødt barn med LOD GBS infeksjon hvor stamme var isolert fra halssekret i 2018 og fra blodkultur i 2017.

Det ble i 2018 observert fortsatt økning i antall tilsendte isolater fra invasive infeksjoner sammenlignet med tidligere år. Referanselaboratoriet har de senere år mottatt stammer fra flere pasienter enn det antall som er meldt til MSIS. I 2018 var det en mindre diskrepans mellom antall mottatte stammer til referanselaboratoriet og meldte til MSIS: i 2018 mottok referanselaboratoriet stammer fra 8 pasienter flere enn det som ble meldt til MSIS (259 pasienter). 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 kvalitetssikret våre data med data fra MSIS.

Antall tilfeller av invasive infeksjoner i 2018 fordelt på aldersgrupper viser et stabilt tall. Et lavere antall av GBS tilfeller hos spedbarn var registrert i dette året (n=30) i forhold til 2017 (n=35). Samtidig ble det registrert et økende antall invasive infeksjoner i alle alders grupper av voksne pasienter.

I 2018 var kapselserotype III, V, Ia og IV (i fallende rekkefølge) hyppigst forekommende (Tabell 2). En tidligere relatgiv uvanlig kapseltype, CPS IV var i 2018 fjerde hyppigste kapseltype. Andel invasive stammer med resistens overfor erytromycin og clindamycin var henholdsvis 22,2 % og 12 % (2017; 23% og 2016; 17,1%). Andel av clindamycin resistente stammer har holdt seg stabilt i de siste årene (2017:15,3%; 2016:12,6%).

GBS sykdom hos nyfødte

I 2018 mottok vi stammer fra i alt 30 (2017:35; 2016:40) spedbarn av sepsis, fordelt på 15 tilfeller med EOD og 15 med LOD. Som nevnt døde et av barna med LOD. GBS referanselaboratoriet har bidratt med genotyping av isolatet fra dette barnet og andre isolater fra samme sykehus. Det var også mottatt autopsi materiale med opplysninger om fosterdød, ikke relatert til utbruddet. 15 (50%) av 30 stammer fra barn med EOD og LOD hadde kapseltype III (2017: 17 av 35 stammer; 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. Antall invasive GBS isolater i 2018 fra infeksjoner hos voksne (237 pasienter) visste en lett stigning i forhold til antall fra 2017 (199 pasienter). Dette var imidlertid kun et lett fall i 2017, sammenlignet med de siste årene (2016: 246; 2015: 216). Av 237 invasive infeksjoner hos voksne var 229 ikke relatert til graviditet eller fødsel. Vi mottok 8 isolater fra infeksjon i relasjon til svangerskap/fødsel/barsel i 2018, sammenlignet med 14 stammer i 2017 og 22 stammer i 2016.

For isolater fra voksne var kapseltypene V og Ia hyppigst forekommende (henholdsvis 44 og 43), fulgt av kapseltype III (41), IV, II og Ib. I denne gruppen har vi opplysninger om 2 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 59 (22,2%) av 266 isolater fra blodkultur og spinalvæske, som representerer et stabilt tall i forhold til 2017: 54 (23%) og noe høyere enn i 2016 (17,1%) og 2015 (17,9%). Det var ikke påvist intermediær følsomhet mot erytromycin hos noen invasive isolater, tilsvarende som i 2017 (2016: 4,6%). Alle erytromycin resistente isolater var testet for MLS_B resistens fenotype (*erm* gen). Blant erytromycin resistente isolater var konstitutiv MLS_B fenotype vanligst (38 isolater), mens induserbar MLS_B fenotype ble påvist i 11 isolater. Høygradig resistens mot både erytromycin og clindamycin (>256 mg/L) ble påvist hos et isolat uten at mekanisme kunne avklares. Resten av erytromycinresistente isolater (9 isolater) hadde resistensmønster som var i samsvar med en efflux-mediert M fenotype kodet av *mef* genet. Resistens mot clindamycin ble funnet hos 32 av 266 invasive isolater (12,03%) og alle stammene unntatt én var resistente mot erytromycin (konstitutiv MLS_B fenotype). Antall clindamycin-resistente isolater (12,03%) holder seg stabilt sammenlignet med 2017 (15,3%) og 2016 (12,6%).

Høygradig resistens (>256 mg/L) mot erytromycin og clindamycin ble funnet hos henholdsvis 17 og 20 stammer, alle unntatt én med konstitutiv MLS_B resistens-fenotype. Blant stammer resistente for både erytromycin og clindamycin (38 stammer med MLS_B konstitutiv fenotype) var 10 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
Totalt antall stammer mottatt	197	228	236	240	249	281	304	277	328
Antall pasienter med invasiv sykdom *	176	203	217	225	235	262	288	235	267
Meldt MSIS	166	191	203	201	209	229	246	230	259

* for enkelte pasienter ble det mottatt mer enn ett isolat

Tabell 2: Oversikt over invasive GBS stammer innsendt til referanselaboratoriet for GBS i 2018, total 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												
Early onset disease (EOD, 0-6 dager)	1		1	8		5						15
Late onset disease (LOD, 7-89 dager)	4	3		7		1						15
Fosterdød										1		1
Voksne og barn >1 år												
Ikke relatert til graviditet /fødsel	43	24	31	41	35	44	4		3	4		229
Relatert til graviditet/fødsel	2	1	1	1	2	1						8
Totalt	50	28	33	57	37	51	4		3	5		268

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