

ÅRSRAPPORT 2019

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. Også stammer fra 2018 er nå karakterisert med genomsekvensering.

Publikasjoner 2019:

Poster presentasjon Arne M. Taxt et al «A nosocomial outbreak of group B streptococcus serotype Ib causing sepsis in the neonatal intensive care unit» på 29. ECCMID kongress i Amsterdam, april 2019.

Ferdige forskningsprosjekter:

1) Doktorgradsavhandling av Birgitta Ehrnström, lege på Medisinsk klinikk, Avdeling for infeksjonssykdommer, St. Olavs Hospital: «Exploring the role of TLR8 as a sensor in bacterial infections» Doktorgradsavhandlingen omfattet undersøkelse av kliniske, fenotypiske og genotypiske karakteristikk av GBS-isolater fra invasive infeksjoner hos voksne pasienter.

2) Mastergradsavhandling av Torunn Gresdal Rønning, spesialbioingeniør ved Avdeling for Medisinsk mikrobiologi, St. Olavs Hospital: «Comparative genomics of Streptococcus agalactiae from adults with invasive infection»

3) Forskerlinjeoppgave i medisinstudiet av Maren Mynarek: “The etiology of cerebral palsy Elucidating the role of perinatal and infant infections“(blant annet fokus på nyfødt infeksjon hos nyfødte)

Pågående forskningsprosjekter:

1) Molekylær basis for resistensmekanisme med uvanlig fenotypisk clindamycin og erytromycin resistensmønster.

2) Masteroppgave Adelle Basson: Identifikasjon av genet som koder for overflateprotein R3 hos GBS.

3) Undersøkelse av utbrudd på Nyfødt intensiv avdeling ved Ullevål sykehus i desember 2017-januar 2018. Samarbeidsprosjekt mellom Ullevål sykehus og GBS referanse laboratorium.

4) Forskerlinjeprosjekt Elise Uggen: Streptococcus agalactiae - systemic infection in adults

5) PhD prosjekt, Maren Mynarek: Are specific genetic characteristics of group B streptococci (GBS) associated with higher risk of neonatal mortality or neurodevelopmental disorders?

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 2019

Hovedpunkter

1. I 2019 fortsetter en gradvis økning i antall mottatte isolater fra tilfeller med invasiv GBS infeksjon.

2. Det var en lett nedgang i antall invasive isolater fra spedbarn, mens antall av innsendte stammer fra voksne er fortsatt stigende. 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. Det var i 2019 ikke noen vesentlig endring i forekomsten av ulike serotyper/ genotyper sammenlignet med tidligere år.
4. Forekomsten av resistens mot medikamentene clindamycin og erytromycin var ikke vesentlig forskjellig fra de senere årene.
5. Referanselaboratoriet har i løpet av dette året mottatt tilnærmet samme antall GBS-stammer isolert fra pasienter med invasive infeksjoner som det som var meldt til MSIS.

Generelt

De 341 GBS stammene mottatt i 2019 var fra følgende materialer (antall isolater): blodkultur 310 (inkludert 9 isolater som kommer fra dobbelt innsending og 2 triplikater mottatt fra samme pasient), spinalvæsker 5 (hvor 3 pasienter har samme funn i blodkultur), diverse biopsier/vev 5, leddvæske/bursavæske 11, uterusaspirat 2, andre diverse prøvematerialer (abscess, puss, aspirat fra legg, mammae, hofte, hals screening fra foster og 1 prøvemateriale ikke oppgitt) 8. Det ble ikke mottatt autopsimateriale i løpet av dette året.

301 stammer var mottatt fra 300 unike pasienter med invasiv sykdom, isolert fra 299 unike bakteriemiepisoder og 5 spinalvæsker (3 med samme funn i blodkultur). En voksen pasient hadde 2 separate bakteriemiepisoder med 2 ulike kapseltyper og dette er årsaken til diskrepans mellom antall stammer med unike kapseltyper og antall pasienter med invasiv sykdom (Tabell 1).

Det ble i 2019 observert fortsatt økning i antall isolater fra invasive infeksjoner sammenlignet med foregående år, hvor vi har observert en gradvis økning i antall stammer fra pasienter med invasiv sykdom i de siste årene. Referanselaboratoriet har hvert år mottatt flere stammer enn det som ble meldt til MSIS. I 2019 var det godt samsvar mellom antall mottatte stammer fra invasive infeksjoner (310 blodkulturer og 5 spinalvæsker) til referanselaboratoriet og meldte tilfeller til MSIS. Grunnen til lavere antall tilfeller presentert i tallene fra referanselaboratoriet (Tabell 1) er at kun unike pasienter med invasiv sykdom er medregnet i denne beregningen. Fordi referanselaboratoriene ikke har tilgang til MSIS-data har det ikke vært mulig å undersøke hvilke tilfeller hvilke sykdomsepisoder der er diskrepans mellom referanselaboratoriet of 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 2019 fordelt på aldersgrupper er fortsatt stabilt. Antall GBS-tilfeller hos spedbarn var tilsvarende det som ble registrert i 2018 (30), og noe lavere i forhold til tallene fra 2017 (35). Samtidig ble det registrert økende antall invasive infeksjoner i alle aldersgrupper av voksne pasienter (270) i forhold til tallene fra 2018 og 2017 (henholdsvis 237 og 199 tilfeller).

I 2019 var kapselserotype III, V, Ia og II (i fallende rekkefølge) hyppigst forekommende (Tabell 2). Andel invasive stammer med resistens overfor erytromycin og clindamycin var henholdsvis 25,2% og 12,9%. Det var ingen vesentlig endring i andel erytromycin-resistente stammer sammenlignet med 2018 (22,2%) og 2017 (23%). Andelen av clindamycin-resistente stammer har holdt seg stabil i de siste årene (2018:12%; 2017:15,3%).

GBS sykdom hos nyfødte

I 2019 mottok vi stammer fra i alt 30 (2018:30; 2017:35) tilfeller av nyfødtsepsis, fordelt på 10 tilfeller med EOD og 20 med LOD. Det var ikke meldt noen dødsfall blant nyfødte i løpet av 2019.

19 (63%) av de 30 stammene hadde kapseltype III (2018: 15 av 30; 2017: 17 av 35 stammer; 2016: 24 av 40 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 2019 fra infeksjoner hos voksne (270 pasienter) viste en 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 257 ikke relatert til graviditet eller fødsel. Vi mottok 13 stammer isolerte fra infeksjon i relasjon til svangerskap/fødsel/barsel i 2019, sammenlignet med 8 isolater fra 2018 og 14 stammer fra 2017.

For isolater fra voksne var kapseltypene V og Ia hyppigst forekommende (henholdsvis 59 og 52), fulgt av kapseltype III (50), II (38), Ib og IV. 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 76 (25,2%) av 301 stammer fra blodkultur og spinalvæske, som er i det vesentlige uendret fra 2018:59 (22,2%) og 2017: 54 (23%), men høyere enn i 2016 (17,1%) og 2015 (17,9%). Det ble ikke påvist intermediær følsomhet mot erytromycin hos noen invasive isolater, tilsvarende som i 2018 og 2017 (2016: 4,6%). Alle erytromycin-resistente isolater ble testet for MLS_B resistens fenotype. Blant erytromycin resistente isolater var konstitutiv MLS_B fenotype vanligst (51 stammer), mens induserbar MLS_B fenotype ble påvist i 21 stammer. Høygradig resistens mot både erytromycin og clindamycin (≥ 256 mg/L) ble påvist hos 23 stammer, alle unntatt 2 med konstitutiv MLS_B resistens fenotype. Resten av erytromycinresistente isolater (6 stammer) hadde resistensmønster som var i samsvar med en efflux-mediert M fenotype. Resistens mot clindamycin ble funnet hos 39 (12,9%) av 301 invasive stammer og alle stammene unntatt én var resistente mot erytromycin (konstitutiv MLS_B fenotype). Antall clindamycin-resistente isolater (12,9%) holder seg stabilt sammenlignet med 2018 (12,03%), 2017 (15,3%) og 2016 (12,6%).

Blant stammer resistente for både erytromycin og clindamycin (51 stammer med MLS_B konstitutiv fenotype) var 11 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
Totalt antall stammer mottatt	197	228	236	240	249	281	304	277	328	341
Antall pasienter med invasiv sykdom *	176	203	217	225	235	262	288	235	267	300
Meldt MSIS	166	191	203	201	209	229	246	230	259	315

* for enkelte pasienter ble det mottatt mer enn ett isolat

Tabell 2: Oversikt over invasive GBS stammer innsendt til referanselaboratoriet for GBS i 2019, 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												
Early onset disease (EOD, 0-6 dager)	4			3	1	1	1					10
Late onset disease (LOD, 7-89 dager)	2	1		16	1							20
Fosterdød												0
Voksne og barn>1 år												
Ikke relatert til graviditet /fødsel	48	30	38	45	24	59	3		3	8		258
Relatert til graviditet/fødsel	4	3		5	1							13
Totalt	58	34	38	69	27	60	4		3	8		301

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