anne.torunn.mengshoel@fhi.no sine svar

- 1. Navn på laboratoriet
  - Folkehelseinstituttet, Avdeling for bakteriologi
- 2. Oppgi hvilket agens det dreier seg om
  - Referansefunksjon for mykobakterier omfatter artene i M. tuberculosis-komplekset (MTBC) og non-tuberkuløse mykobakterier (NTM), kun MTBC er nominativt meldepliktig.
- 3. Innledning der smittestoffet kort omtales
  - Referansefunksjon for mykobakterier omfatter artene i M. tuberculosis-komplekset (MTBC) og ikke-tuberkuløse mykobakteriene («non-tuberculous mycobacteria»; NTM), kun MTBC er nominativt meldepliktig. NTM er vanlig forkommende i miljøet (jord og vann), men kan gi sykdom hos mennesket. Immunsupprimerte og lungesyke er spesielt utsatt, men andre kan også få infeksjon i relasjon til kirurgiske/kosmetiske inngrep/injeksjoner, og det kan forekomme utbrudd på sykehus/institusjoner. Det er nå beskrevet mer enn 190 mykobakterie arter https://lpsn.dsmz.de/genus/mycobacterium. Nasjonalt referanselaboratorium (NRL) ved FHI mottar mykobakterikulturer for identifikasjon, resistenstesting, molekylær epidemiologisk karakterisering og oppbevaring i stammebank. Diagnostikken er pasientrettet i tillegg til å være folkehelserettet. M. leprae lar seg ikke dyrke og NRL har per i dag ikke tilgjengelig diagnostikk for arten. I 2022 mottok NRL 493 mykobakteriekulturer fra landets laboratorier: 165 MTBC (33%) og 321 NTM (65%), dessuten 7 M. bovis BCG. De aller fleste i MTBC var M. tuberculosis og de vanligste NTM tilhørte M. avium-komplekset (MAC) og M. chelonae/abscessus gruppen. Vi utfører også IGRA, T-spot.TB, for påvisning tuberkulose smittte.
- 4. Anvendt referansediagnostikk og analysemetoder (redegjør for eventuelle endringer)
  - Vi benytter molekylære metoder for identifikasjon av ulike mykobakterier, påvisning av resistens, lineage og slektskapsanalyse. For påvisning av resistens benytter vi både molekylære og fenotypiske metoder. Av molekylære metoder benytter vi LPA (line probe assay, fra Hain) for både MTBC og NTM, og for MTBC utføres rutinemessig helgenomsekvensering. LPA er PCR baserte hybridiseringstester med ulike målgen, som er spesielt egnet for analysering av kulturer fra primærdyrkningen av mykobakterier, utført på primærlaboratoriene (ikke subkultiverte renkulturer). De benyttes for identifikasjon hovedsakelig av NTM, og for rask påvisning av resistens for utvalgte antibiotika, både for MTBC og NTM. I 2022 har det blitt utført færre LPA for identifikasjon av art i MTBC, siden det fremkommer ved helgenomsekvensering, og flere LPA for rask påvisning av rifampicin og isoniazid resistens hos MTBC. NRL utfører fenotypisk resistensbestemmelse både av MTBC og NTM. Alle nye MTBC isolat i Norge testes fenotypisk for førstelinje-medikamenten (rifampicin, isoniazid, ethambutol og pyrazinamid). Dette utføres på NRL og på OUS med det semi-automatiske Becton Dickinson BACTEC MGIT 960 systemet, med kritiske konsentrasjoner i henhold til gjeldende retningslinjer fra WHO (fremgår av tabell 5), med unntak av rifampicin hvor kritisk konsentrasjon nå er anbefalt å være 0,5 mg/L. BD har imidlertid ikke tilpasset BACTEC MGIT 960 systemet til denne konsentrasjonen, så inntil videre tester vi ved 1,0 mg/L. Imidlertid får vi ved helgenomsekvensering en god oversikt over mutasjoner som

kan komme sensitivt ut ved 1,0 mg/L. All påvist resistens på OUS blir kvalitetssikret ved NRL. Ved påvist resistens for førstelinje-medikamentene, utføres utvidet resistensbestemmelse. I Norge gjøres dette kun ved NRL og isolat blir også videresendt til Sverige (Folkhälsomyndigheten, FHM) for resistensbestemmelse av enkelte antibiotika. NRL har i 2022 startet prosessen med å anskaffe antibiotikapulver som benyttes til utvidet testing ved FHM, og verfisering av antibiotikaløsningene i BACTEC MGIT 960 systemet, vil starte i 2023. Alle MTBC isolat som mottas ved NRL helgenomsekvenseres fortløpende, det utføres NGS (next-generation sequencing) på Illumina plattform. Alle isolat mottatt fra 2016 er sekvensert og inngår i en egen lokal database. Det er etablert en intern pipeline (IPL) for identifikasjon, resistenspåvisning og slektskapsanalyse. Fra 2020 har lineage og slektskap blitt rapportert fortløpende på våre svarbrev, og fra slutten av 2021 har også artsidentifikasjon blir rapportert. Helgenomsekvensering sammen med intern pipeline (IPL) og andre analyseverktøy supplerer/bekrefter resistensresultatene fra LPA og fenotypisk testing. NRL utfører fenotypisk testing av hurtigvoksende NTM med buljong mikrofortynnings metoden (BMM) i hht CLSI (clinical and laboratory standards institute) standard. Langsomtvoksende NTM har vært videresendes til Karolinska universitetslab., men i 2022 startet arbeidet med verifisering og implementering av dette ved NRL, og vil bli utført i rutinen iløpet av 2023. NRL deltar i flere EQA for alle metoder som benyttes, med gjennomgående svært gode resultat, og det dokumenteres i vårt kvalitetssikringssystem. På NRL benyttes T-SPOT.TB (elispot test) for immunologisk påvisning av tuberkulose smitte. Denne testen utføres kun ved NRL i Norge, og blir utført ved fortsatt sterk mistanke om TB-smitte etter at Quantiferon-test (QFT) ikke har gitt entydig resultat.

- 5. Epidemiologiske data, bistand til overvåking, beredskap og respons ved utbrudd av smittsomme sykdommer
    - All diagnostikk som utføres ved NRL rapporteres til primærlaboratoriene og ev. med kopi til behandlende lege. For MTBC sendes fortløpende elektronisk melding til MSIS, som bidrar til den fortløpende overvåkning av dyrkningsbekreftede tuberkuolsetilfeller i Norge: art i M. tuberculosis komplekset, lineage, resistensforhold og slektskap med tidligere tuberkuloseisolat, blir registrert. Data fra MSIS registeret danner grunnlag for den årlige Tuberkuloserapporten som instituttet publiserer hvert år på fhi.no https://www.fhi.no/publ/2022/tuberkulose-i-norge-2021--med-behandlingsresultater-for-2020/ Den gir en utfyllende oversikt over forekomst av tuberkulosesykdom, mikrobiologisk diagnostikk og funn, smitteoppsporing og utbruddsetterforskning. Resistensdata fra MSIS inngår også i den årlige NORM rapporten. Data til disse rapporten baserer seg på funn fra primærlab. og i stor grad fra NRL. De publiseres på et senere tidspunkt og dataene har foreløpig ikke blitt sammenstilt. På instituttet har vi en TB gruppe på tvers av avdelinger (smittevern, laboratorie og register) som har jevnlige møter hvor man gjennomgår funn av beslektede tuberkuloseisolat og mulighet for smittesammenheng, som ikke har vært fanget opp av smitteoppsporingen som skjer ute i kommunene. Referanselaboratoriet har siden 2020 benyttet helgenomsekvensering og egnede analyseverktøy, for overvåkning av innenlands smitte og utbrudd av tuberkulose. Vi benytter hovedsakelig en intern pipeline (SNP basert tilnærming), men også SeqSphere+ (core genome

MLST tilnærming) fra Ridom, i den fortløpende overvåkningen. Uansett er det nødvendig å sammenholde informasjon fra smitteoppsporingsskjema, MSIS skjema og smittevernansvarlige i kommunene, for vurdering av innenlands smitte. Det holdes månedlige møter med de ansvarlige på referanselaboratoriet og i smittevernavdelingen på instituttet, for fortløpende vurdering av dette. Funn og infeksjoner med NTM er ikke meldingspliktig, men NRL mottar fortløpende isolat fra primærlaboratoriene og ved mistanke om utbrudd vil vi kunne bistå.

- 6. Har du funn og epidemiologiske data med aktuelle trender (over år) i tabells form, last opp fil her (filen må være i word - maks 1MB størrelse)
    - Tbl_publ_årsrapp_referansefunksj_mykobakterier 2022.docx
- 7. Samling av stammer og annet referansemateriale, eventuelle biobanker med tilhørende tillatelser
    - Alle mottatte isolat, både MTBC og NTM, blir rutinemessig arkivert i nasjonal stammebank ved NRL. Alle stammer med kvalitetssikret identifikasjon på species, ev. gruppenivå. Vi har også DNA fra MTBC isolat tilgjengelig for en periode. NRL har også referansemateriale fra ulike leverandører, som benyttes til den fortløpende kvalitetssikringen av diagnostikken ved NRL. Ved behov kan egnet materiale benyttes av primærlab. som ønsker å kvalitetssikre sine metoder. For eksempel ble det i 2020 sendt egnede prøver til et laboratorium som ønsket å etablere PCR test for påvisning av mutasjoner assosiert med resistens for rifampicin og isoniazid. Som en del av Ringtest programmet (ved FHI) blir det også sendt ut egnet materiale til landets laboratorier for SLP (sammenlignende laboratorieprøvning).
- 8. Vitenskapelig råd og støtte
    - Ved henvendelse gis fortløpende råd og støtte i forbindelse med diagnostikk, infeksjoner og smitte, når det gjelder mykobakterier, både MTBC og NTM. NRL bidrar til å holde Tuberkuloseveilederen (https://www.fhi.no/nettpub/tuberkuloseveilederen/) oppdatert, og bidrag også til metodebok om TB og mykobakterier på OUS, Ullevål. NRL var arrangør av strategimøte og ansvarlig for Strategirapport nr 30 i 2016, om Mykobakteriediagnostikk. Annet hvert år har NRL arrangert Mykobakterie kurs for LIS i medisinsk mikrobiologi, som har vært samkjørt med kurs om Diagnostikk og behandling av tuberkulose, for LIS i bla. Infeksjonsmedisin. Dette ble avhold i november 2022. Kurset om mykobakterier ledes av NRL i samarbeid med OUS, både det infeksjonsmedisinske og mikrobiologiske miljøet der. Dette er et 4 dagers kurs med både teori og praksis, dvs demonstrasjon på lab. og mikroskopi kurs. Det er et anbefalt kurs for LIS i medisinsk mikrobiologi.
- 9. Samarbeid og forskning
    - Alle analyseresultat på innsendte kliniske mykobakterie isolater rapporteres til innsendende laboratorium skriftlig. I tillegg er ingeniører og medisinsk mikrobiolog stadig i kontakt, enten på telefon eller e-post, med laboratoriene og henvisende instanser (behandlende lege, smittevernansvarlige og tuberkulosekoordinatorer), for rapportering av resultat og diskusjon av ulike problemstillinger knyttet til diagnostikk, behandling og smitteoppsporing. Dette gjelder også i høy grad for NTM diagnostikk og infeksjoner. Det er 13 laboratorier i Norge som påviser mykobakterier direkte i prøvematerialet, alle utfører direkte mikroskopi (påviser syrefaste staver) og 11 påviser MTBC ved PCR, og av disse er det 8 som utfører dyrkning i tillegg. Graden av

identifikasjon og påvisning av resistens varierer mellom de ulike laboratoriene, og diagnostikken blir supplert ved NRL slik at alle mottatte isolat blir identifisert til arts ev. gruppe nivå, og alle MTBC isolat blir resistenstestet for førstelinje-medikamentene, som et minimum. NRL tilpasser seg diagnostikken som utføres ved primærlab. og i 2022 var vi i dialog med OUS ang bruk av MALDI-TOF MS for identifikasjon av NTM, og konsekvenser for håndtering/diagnostikken hos oss. I 2022 arrangerte NRL et halvdags Webinar for landets primærlab. om mykobakterie diagnostikk. Det var innlegg fra NRL og fra enkelte primærlab. om aktuelle problemstillinger og en gjensidig oppdatering av diagnostikken som utføres ved NRL og laboratoriene. For OUS, Ullevål og Rikshospitalet, som utfører resistensbestemmelse MTBC for førstelinje-medikamentene, distribuerer NRL EQA fra WHO (tilsendt fra Folkhälsomyndigheten), for kvalitetssikring av diagnostikken der. Resistensdata fra OUS legges inn i MSIS registeret. NRL deltar i Nasjonal faggruppe for RR/MDR-TB, sammen med ansatte på smittevernavdelingene, som er involvert i tuberkulosearbeidet på instituttet. I denne faggruppen er det representanter fra landets regionssykehus, som har ansvar for behandling av RR/MDR-TB I den forbindelse med økt fokus, annerkjennelse og påvisning av infeksjoner med NTM, er det opprettet en gruppe på OUS som har jevnlige møter hvor man diskuterer behandling av ulike infeksjoner med NTM. Gruppen er tverrfaglig og medisinsk mikrobiolog fra NRL deltar. Initiativtager til gruppen tok også initiativ til en oppsummerende artikkel om tema (publisert i legetidsskriftet i 2019). NRL deltar i nasjonale og internasjonale prosjekter og nettverk, innenfor hovedområdene resistens (metoder og overvåking) og molekylærepidemiologi, både når det gjelder MTBC og NTM. Imidlertid har de siste årene, vært preget av Covid-19 epidemien for de fleste tilknyttet området Smittevern på instituttet, både for ansatte på laboratorie- og smittevernavdelingene, og det har ikke vært lett å prioritere annet forskningsarbeid. Men NRL er en del av det europeiske nettverket for nasjonale referanselaboratorier for mykobakterier, ERLTB-Net2, i regi av ECDC, som er et aktivt og givende nettverk å være en del av. Representant fra NRL deltok på det årlig møte i Milano i mai 2022 og også på workshop for analysering av NGS data på samme sted, i mars 2022. I april og juni 2022 ble det arranger Q&A sesjoner som webinar, om hhv helgenomsekvensering og NTM. Representanter fra NRL deltok på begge webinarene. Ellers har vi i 2022 bidratt til WHO's mutasjonskatalog med sekvenser av MDR-TB isolat og M. africanum, med totalt 40 isolat. Og vi har bidratt til i prosjektet «Defining ECOFFs for Mycobacterium abscessus and MAC by broth microdilution» i regi av AMST undergruppe i EUCAST, med resistensresultat for 63 M. abscessus isolat (ulike subspecies). Akseptert til publisering i CMI primo februar 2023. Info på hjemmeside: https://www.fhi.no/nettpub/veileder-for-mikrobiologiske-laboratorieanalyser/agens-a-a/mykobakterier/?term=&h=1

- 10. Organisatoriske-, administrative- og ressursmessige forhold knyttet til referansefunksjonen samt forutsetninger for videre drift
    - Generell kommentar for alle referansefunksjonene ved FHI: Fra høsten 2022 fikk Folkehelseinstituttet omfattende budsjettkutt, med konsekvenser for aktivitet. Referansefunksjonene er en prioritert oppgave, og annen laboratorieaktivitet har blitt strengt vurdert. Covid-19 medfører nye, varige oppgaver og pandemien har medført en endring i

bemanningssituasjonen, og begge deler har gitt kapasitetsutfordringer. Vi har fokus på å opprettholde god faglig kvalitet, og gjør fortløpende justeringer i oppgaver og ressursbruk for å ivareta referansefunksjonene. Gjennom EU-bevilgning (HERA og EU4Health) har vi fått ressurser til å styrke digitalisering og harmonisering av metodikken av helgenomsekvensering og -analysering. Dette vil på sikt føre til mer effektiv drift.