Oslo universitetssykehus HF
Rikshospitalet
Postboks 4950 Nydalen
0424 Oslo

Sentralbord: 915 02 770

Oslo sykehusservice
VO smittevern
Avdeling for smittevern

Årsrapport for 2022:
Clostridioides difficile referansefunksjon ved Avdeling for smittevern/ Avdeling for mikrobiologi, Oslo universitetssykehus

Agens

Clostridioides difficile

Innledning

Clostridioides difficile er en anaerob, grampositiv, sporedannende bakterie som er i stand til å produsere giftstoffer som kan gi sykdom. Bakterien ansees som en multiresistent mikrobe selv om resistens mot behandlingsalternativene metronidazol, vancomycin og fidaksomicin ikke er utbredt. En *Clostridioides difficile* infeksjon (CDI) kan variere i alvorlighetsgrad; fra asymptomatisk bærerskap (kolonisering) via en mild diaré til en livstruende pseudomembranøs kolitt. Det er særlig i tilfeller der den vanlige tarmfloraen til pasienter blir forstyrret f.eks. ved antibiotikabruk, at CDI opptrer. CDI er en hovedårsak til diaré i helsetjenesten, er ansvarlig for store utbrudd i sykehus og er en stor kostnadsbyrde for helseinstitusjoner verden over. De senere årene har det blitt registrert en økning av antall tilfeller også utenom helsetjenesten. På begynnelsen av 2000-tallet ble det observert en voldsom økning av antall alvorlige CDI tilfeller. Mye av økningen skyltes såkalte hypervirulente stammer som var selektert ut bl.a ved økt fluorokinolon bruk. Antall tilfeller har senere flatet ut. Dette kan skyldes dels økt fokusering på sykdommen, dels økt sykdomsovervåking og dels bruk av antibiotika-styringsprogrammer. CDI er en meldepliktig sykdom gr. A i Meldingssystemet for smittsomme sykdommer (MSIS) og skal meldes fortløpende.

Anvendt referansediagnostikk og analysemetoder

Referansefunksjonen mottar kun isolater fra de mikrobiologiske laboratoriene. Dette er stammer som er dyrket opp ved laboratoriene etter at primærdiagnostikk med molekylær og/eller antigen test er utført.

Stammene kan komme fra inneliggende pasienter eller de kan være fra polikliniske pasienter. Referansefunksjonen har en egen rekvisisjon til bruk for primærlaboratoriene.

Utvalgte analyser	Antall utført i 2022
Dyrkning	691
Toksinspesifikke PCR	442
PCR ribotyping	619
Helgenomanalyse	30

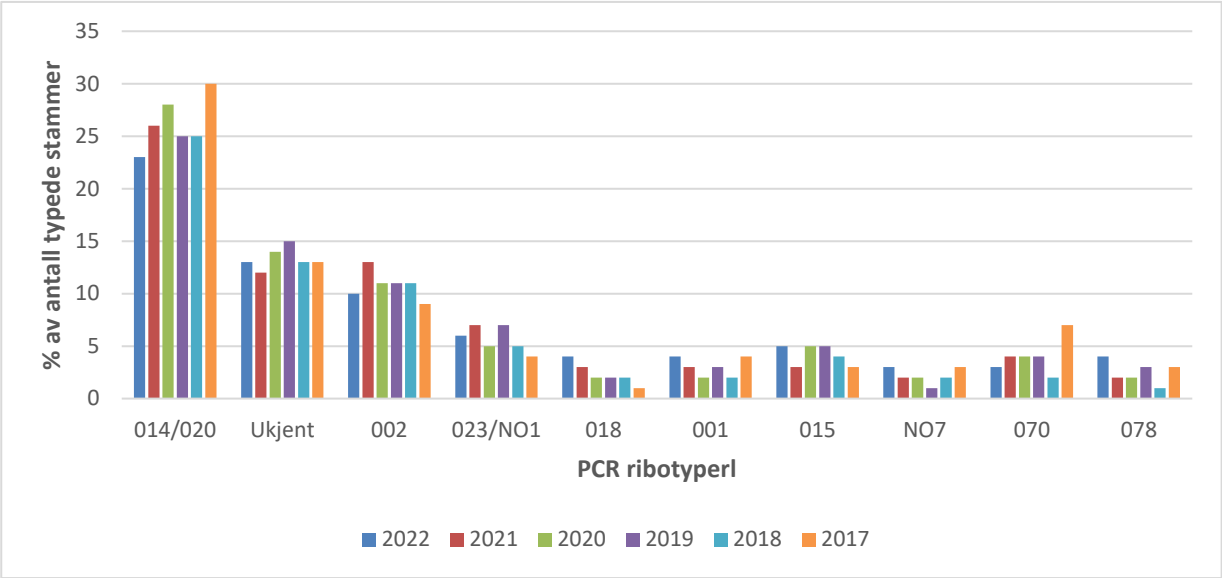
1. **Dyrkning av innsendte stammer**. Dyrkes på en generell anaerob skål (HM-0) og en selektiv *C.difficile* skål (CLO) under anaerobe forhold. Dyrking ansees som referansemetode hvis man i tillegg klarer å påvise gen for toksin.
2. **Identifikasjon** ved hjelp av MALDI TOF MS, agglutinasjonstest (Oxoid) og en artsspesifikk gluD-PCR (Lyerly, 1991) som påviser genet for glutamat dehydrogenase (GDH). I enkelte tilfeller benyttes Genexpert *C.difficle* test (Cepheid).
3. **Verifisering av toksingener** (*tcdA, tcdB, cdtA, cdtB*) utføres med egenutviklet PCR (Persson, 2008)
4. **PCR ribotyping** (Bidet, 1999). I Europa bruker man stort sett PCR ribotyping til å undersøke *Clostridioides difficile* –populasjoner. *Clostridioides difficile* kan deles opp i over 800 PCR ribotyper. Referanselaboratoriet ved Oslo universitetssykehus (OUS) har for tiden 71 PCR ribotyper i sin database. Ribotypene er et utvalg av de mest påviste i Europa Referanselaboratoriet vil, i 2022, få tilgang på ny instrumentering slik at det kan utføres kapillær fragmentanalyse i forbindelse med ribotyping. Dette gir mulighet for ytterligere harmonisering mot andre laboratorier i Europa. PCR ribotyping er akkreditert etter ISO15189.
5. **Resistensbestemmelse (MIC)** av *Clostridioides difficile* stammer. Gjøres ikke rutinemessig da resistens mot behandlingsalternativene metronidazol, vancomycin og fidaksomicin er ikke utbredt. Man kan benytte moksifloksasin-resistens som en markør for hypervirulente stammer (PCR ribotype 027).
6. **Helgenomanalyse** av *Clostridioides difficile* stammer vha Illumina teknologi. Det er utviklet en bioinformatisk arbeidsflyt for å sammenligne stammer fylogenetisk. Det arbeides videre med å automatisere bibliotekprep slik at kapasiteten for helgenomanalyse kan økes ved behov f.eks. ved større utbrudd. Det er et kontinuerlig arbeid med en mer automatisert bioinformatisk arbeidsflyt og med et analysepanel som man også kan bruke på andre toksinproduserende Clostridium sp.

Epidemiologiske data, bistand til overvåking, beredskap og respons ved utbrudd av smittsomme sykdommer

CDI er en meldepliktig sykdom gr. A i Meldingssystemet for smittsomme sykdommer (MSIS). Rapporter om antall positive tilfeller finnes på deres hjemmesider (www.msis.no). Antall rapporterte tilfeller av CDI er på 3307 tilfeller i 2022. Dette er det høyeste antall tilfeller som er rapportert inn til MSIS og en økning på rundt 10% fra 2021. Historisk har antall tilfeller ligget på rundt 3000 tilfeller pr.år. Epidemiologiske data for Norge er sparsommelige utenfor det som rapporteres inn til MSIS. Som ellers i Europa dominerer PCR ribotype RT014/020 (23 %) og RT002 de innsendte stammene (10%). Antall stammer innsendt som er av den hypervirulente PCR ribotype 078 (4%) ligger stabilt lavt, mens vi har registrert en liten økning av tilfeller med den hypervirulente PCR ribotype 023/NO1 (6%). Antallet stammer innsendt som er karakterisert som den hypervirulente PCR ribotype 027 (under 1%) holder seg stabilt lavt. Gruppen av ukjente ribotyper er fremdeles stor (13 %), noe som tilsier at det er behov for å ta i bruk en referansedatabase med flere ribotypereferanser. Laboratoriet har ikke registrert større utbrudd av *Clostridioides difficile* relatert sykdom i 2022. Referanselaboratoriet for *Clostridioides difficile* tar, i hovedsak, imot innsendte isolater fra laboratorier som ønsker en nærmere karakterisering og en kontinuerlig epidemiologisk overvåkning av sine stammer. Det er kun de mikrobiologiske laboratoriene ved Sykehuset Innlandet Lillehammer, Akershus universitetssykehus og Oslo universitetssykehus som regelmessig benytter seg av referansefunksjonstjenesten. Dette kan skyldes at dyrkning av *Clostridioides difficile* ikke er primærdiagnostikk ved flere laboratorier, selv om det i Strategirapport for anaerob diagnostikk 2009 anbefaler at man innfører dette ved primærlaboratoriene. Ved gjennomgang av årsrapporten 2019 for referansefunksjonen ble det påpekt fra rådgivningsgruppen at det hadde vært ønskelig at flere av de mikrobiologiske laboratoriene brukte referansefunksjonen. Dette er selvsagt noe referansefunksjonen også ønsker, men referansefunksjonen registrerer det motsatte. I desember 2022 avviklet det mikrobiologiske laboratoriet ved Sykehuset Innlandet dyrkning av C.difficile. Dermed vil referansefunksjonen kun ta imot prøver fra to sykehus regelmessig og man bygger ned beredskapen med tanke på større utbrudd av CDI. Dette gjør at referansefunksjonen bør forandre sine rutiner.

Etter modell fra Sverige og Danmark vil periodeprevalens av *C.difficile* ,der alle mikrobiologiske laboratorier sender primærmateriale av de ti første positive prøver i en gitt periode (november) samt epidemiologiske data etter overvåkningsprotokoll fra ECDC, også være et alternativ for Norge. Referansefunksjonen har tro på at disse epidemiologiske data koblet med helgenomdata vil gi bedre oversikt over tilstanden av CDI i Norge. Dette har i 2022 vært diskutert med FHI og MSIS.

Epidemiologiske data med aktuelle trender (over år) i tabells form



Tabellen viser andel utvalgte PCR ribotyper av totalt innsendte stammer.

Samling av stammer og annet referansemateriale, eventuelle biobanker med tilhørende tillatelser

Helse Sør-Øst RHF ved Oslo universitetssykehus HF ble tildelt nasjonal referansefunksjon for diagnostikk av *Clostridioides difficile* i 2015. Avdeling for smittevern har, i samarbeid med Avdeling for mikrobiologi, genetisk karakterisert *Clostridioides difficile* stammer siden 2008. Antall stammer i stammebanken teller over 7500 karakteriserte stammer (pr. 01.03.2022). Laboratoriet er lokalisert på OUS Rikshospitalet.

Vitenskapelig råd og støtte

Laboratoriet bidrar med undervisning om *Clostridioides difficile* både internt ved Oslo universitetssykehus, men også eksternt gjennom bl.a. nettundervisningsplattformen til Regionalt kompetansesenter for smittevern i Helse Sør-Øst og LIS nettundervining.

Laboratoriet bistår andre laboratorier i valg av diagnostiske metoder og arbeider med protokoll for diagnostikk og rapportering av *C. difficile* Dette gjøres i samarbeid med FHI og det mikrobiologiske fagmiljøet slik at man får en standard for diagnostikk og rapportering av *C. difficile* i Norge. Arbeidet var planlagt ferdig i 2020, men er forsinket grunnet SARS-CoV2 pandemien og andre større nasjonale utbrudd i 2022 der man har måttet ta i bruk samme personale. Dette er et tiltak i regjeringens

handlingsplan for et bedre smittevern med det mål å redusere helsetjenesteassosierte infeksjoner 2019-2023.Arbeidet er i gang og rapport forventet ferdig i 2023.

Colonize-studien er en nasjonal, randomisert behandlingsstudie som undersøker fekal transplantasjon kontra antibiotikakur som primær behandlingsmetode for CDI. Studien styres av Enhet for klinisk effektforskning ved Universitetet i Oslo/Oslo universitetssykehus. Referanselaboratoriet fungerer som en rådgiver inn i denne studien.

Samarbeid og forskning

Avdeling for smittevern, OUS har i samarbeid med Avdeling for mikrobiologi, OUS ansvaret for referansefunksjonen for *Clostridioides difficile*. Avdelingene har samlokaliserte laboratorier ved Rikshospitalet.

Referansefunksjonen samarbeider med Norwegian Sequencing Center (NSC) og Avdeling for medisinsk genetikk, OUS om helgenomanalyse på *C.difficile*.

Referansefunksjonen samarbeider med MSIS der PCR ribotype på innsendte stammer sendes inn til MSIS for å få en bedre epidemiologisk oversikt. MSIS ønsker et tettere samarbeid for å få mer ut av overvåkningen. I den forbindelse ble det sendt ut en spørreundersøkelse til helseforetakene nasjonalt.

Referansefunksjonen samarbeider tett med de andre referansefunksjonene i de nordiske land. I 2020 ble de første felles eksterne kvalitetskontrollene (EQA) for helgenomanalyse på *C.difficile* utført. Dette ble også utført i 2022.

Laboratoret deltar i et internasjonalt konsortium i regi av ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control) der konsortiumet kan tilby hjelp og tilrettelegging av mikrobiologiske analyser for *Clostridioides difficile*. Dette konsortiumet tilbyr også en pilot for eksterne kvalitetskontroller for PCR ribotyping.

Referansefunksjonen fikk i 2019 på plass helgenomanalyse av C.difficile med tilhørende bioinformatisk arbeidsflyt. Det har fra 2020 blitt arbeidet videre med dette med tanke på å automatisere både DNA ekstraksjon, bibliotekpreparering og bioinformatisk analyse. Ved OUS er det utfordringer med lokal IKT-infrastruktur med tanke på lagring og analysering av større mengder genomdata. Fremdeles finnes ingen fullgod prosedyre med å dele genomdata på tvers av helseforetak i Norge, men det arbeides med flere løsninger.

Referansefunksjonen har måttet utsette flere utviklingsprosjekter grunnet SARS CoV-2 pandemien og de større nasjonale utbruddene med henholdsvis *Pseudomonas aeruginosa* og *Serratia marcescens.* Samarbeidsprosjekt med Folkhälsomyndigheten I Sverige som har utviklet en nettbasert programvare

for typing og karakterisering av *C.difficile* med MALDI –TOF massespektrometri vil prioriteres. Det vil også standardisering av PCR ribotyping ved bruk av kapillærelektroforese.

På grunn av SARS CoV-2 pandemien og utbruddene har det vært gjennomført færre kurs, konferanser og workshops i 2022.

Organisatoriske-, administrative- og ressursmessige forhold knyttet til referansefunksjonen samt forutsetninger for videre drift

Arbeidet med referansefunksjonen er integrert i den daglige driften ved Avdeling for smitteverns laboratorietjenester og ved bakteriologisk enhet RH. Arbeidet utføres og driftes av avdelingsingeniør og mikrobiolog André Ingebretsen samt ingeniører ved Avdeling for smittevern og bioingeniører ved Bakteriologisk enhet RH. Overordnet ansvarlig for referansefunksjonen er avdelingsleder Egil Lingaas ved Avdeling for smittevern og avdelingsleder Fredrik Müller ved Avdeling for mikrobiologi. Referansefunksjonen har ikke eget budsjett eller øremerket bevilgning. Referansefunksjonen vil i 2023 bli utført som før, men driften kan bli påvirket av større utbrudd av andre agens. Arbeidet med å gå over til periodeprevalens i stedet for kontinuerlig innsending fortsetter i 2023.Dette vil kreve omorganisering av arbeidet på referansefunksjonen.

Publikasjoner

Ingen publikasjoner i 2022

Oslo, 31.03.2023

André Ingebretsen

Avdelingsingeniør/Mikrobiolog
(Sign)