Fra: "noreply@questback.net" <noreply@questback.net>
Sendt: torsdag 23. mars 2023 15:38:17
Til: "Postmottak (Ekstern post til arkivet)" <f-arkivar@helsedir.no>
Emne: Respons på Årsrapport fra laboratorium med nasjonal referansefunksjon i medisinsk mikrobiologi (23/5389)

rabr@fhi.no sine svar

- 1. Navn på laboratoriet
  - Folkehelseinstituttet
- 2. Oppgi hvilket agens det dreier seg om
  - Streptoccous pyogenes
- 3. Innledning der smittestoffet kort omtales
  - Bakterien Streptococcus pyogenes kalles på norsk (betahemolytiske) gruppe A-streptokokker (GAS). GAS er en hyppig årsak til akutt bakteriell halsbetennelse og akutte hudinfeksjoner (erycipelas og dypere hudinfeksjoner), som kan utvikle seg til alvorlig infeksjon med systemisk sykdom slik som bakteriemi, sepsis og/eller meningitt, og sjeldnere akutt endokarditt. GAS er også en årsak til barselfeber og streptokokk toksisk sjokksyndrom (STSS), en nærmere definert variant av septisk sjokk med tidlig organsvikt. GAS kan også forårsake immunologiske senkomplikasjoner som akutt poststreptokokk glomerulonefritt og akutt revmatisk feber. I perioden 1975-1992 var det bare sepsis forårsaket av GAS som var nominativt meldingspliktig til MSIS. Fra 1993 har alle tilfeller av alvorlig, systemisk GAS-sykdom vært meldingspliktig. På 1990-tallet økte forekomsten av alvorlig, invasiv GAS-sykdom i industrialiserte land, også Norge. Arten kan deles inn i over 100 ulike emm-typer basert på sekvensering av genet som koder for M-proteinet. M-proteinet er den viktigste virulensfaktoren som er knyttet til celleoverflaten, og bidrar til å hindre fagocytose fra vertens forsvarsceller. Det er den hypervariable regionen i N-terminalen av M-proteinet som er kilden til bakteriens antigen-mangfold. På verdensbasis er det GAS genotype emm 1 som er den mest dominerende klonen hos invasive GAS-

isolater. Tidligere dominerte emm 28 i de nordiske landene, men i Norge dominerer nå GAS genotype emm 1. Vaksiner mot GAS er under ulike faser av utprøving, hvorav flere nærmer seg klinisk testing. Fire av de benytter en M-protein fokusert strategi, som enten tar utgangpunkt i hypervariable deler av proteinet og derfor må inkludere antigener fra flere ulike emm-typer, eller som tar utgangpunkt i mer konserverte deler av proteinet. Andre vaksinekandidater benytter andre virulensfaktorer(non-M proteiner) som utgangspunkt; for eksempel SpyCEP, SLO og SCPA.

- 4. Anvendt referansediagnostikk og analysemetoder (redegjør for eventuelle endringer)
    - Påvisning, identifisering og verifisering: FHI mottar renkulturer av GAS fra klinisk prøvemateriale fra pasienter med systemisk infeksjon som en del av referansefunksjonen, samt noen isolater fra ikke systemisk infeksjon (se tabell 1 prøvematerialer). På alle mottatte stammer utføres resistenstesting og helgenomsekvenseringsanalyse for overvåkning og karakterisering. I 2022 mottok referanselaboratoriet totalt 154 isolater med S. pyogenes. Dette er en økning fra 89 i 2021. Ulike smitteverntiltak som implementert under covid-19 panedmien antas å være årsaken til det lave tallet sett i 2021. Antall isolater er fortsatt noe lavere enn man så før pandemien, men det ble observert en tydelig økning 4.kvartal 2022. Dette kan bety at antall tilfeller kan være på vei tilbake til normalnivå (se figur 1). Sekvenseringundersøkelser: Alle mottatte S. pyogenes isolater ble identifisert og karakterisert ved bruk av helgenomsekvensering (WGS). Det ble utført multilokus sekvenstyping (MLST) og emm-typing. Helgenomsekvensering(WGS) er en metode som benyttes til å kartlegge baserekkefølgen av hele genomet til bakterien som blir sekvensert. Det finnes ulike WGS sekvenseringsplattformer. FHI benytter Illumina-plattformer, som er basert på dyp parallell sekvensering av korte DNA-fragmenter (150-600bp). MLST er en av de viktigste molekylære overvåkningsmetodene som benyttes til utredning av relasjoner mellom ulike stammer. Analyseprinsippet er

basert på ekstrahering av informasjon om et satt antall husholdningsgener (7 gener for S. pyogenes). I tillegg til MLST blir karakterisering av emm-genet (M-proteinet) inkludert i overvåkningen av S. pyogenes isolater. Resistensundersøkelser: I henhold til NORM-protokoll ble alle innkomne GAS isolater testet for følsomhet for utvalgte antibiotika i samsvar med anbefalt resistenspanel fra Arbeidsgruppen for antibiotikaspørsmål (AFA). Isolatene blir testet for resistens mot penicillin, erythromycin, clindamycin, tetracycline og trimetophrim/sulfa. Denne testingen ble utført ved MIC bestemmelse ved hjelp av gradientstrips i henhold til EUCAST metode. Resistensforhold for invasive GAS fra 2022 er rapportert til NORM, og samlede resultater vil fremgå av NORM/NORM-vet rapporten for 2022. Blant innsendte isolater fant vi makrolidresistens hos 8 isolater med erythromycin MIC > 0,25 (5%) mens for tetracyclin har vi rapportert 21 isolater med MIC > 1(14%). Alle mottatte isolater var penicillin følsomme. Kvalitetskontroll: Nødvendige metodebeskrivelser som inngår i analysen av mottatte GAS-isolater er utarbeidet i divisjonens kvalitetssikringssystem (Test170). emm-typing av GAS-isolater ved bruk av WGS som metode kvalitetssikres gjennom en årlig ekstern sammenlignende laboratorieprøving (SLP) avtalt mellom Folkehelseinstituttet, Folkhälsomyndigheten i Sverige og Statens Seruminstitut i Danmark (NSR, SSI). I 2022 var det Sverige som arrangerte den gjennomførte SLP'en. I 2022 ble sekvensering av GAS akkreditert i henhold til ISO-standard. Alle prøver besvart etter 01.04.22 følger denne akkrediteringen.

- 5. Epidemiologiske data, bistand til overvåking, beredskap og respons ved utbrudd av smittsomme sykdommer
    - Den mikrobiologiske overvåkningen bidrar til å identifisere eventuelle utbrudd. Det ble ikke erkjent noen utbrudd med GAS i 2022. IGAS rapporteres forløpende til MSIS (figur2). Bildet viser en tydelig nedgang i pandemiårene, spesielt blant de eldre, mens det for alle aldersgrupper, bortsett fra de minste, har det økt igjen i 2022. Det ble i 2021 rapportert om tydelige endringer i hvilke emmtyper som

dominerte i Norge, der emm89 og emm106 var klart dominerende mens emm1 hadde en tydelig fall sammenlignet med dominansen fra tidligere år. I 2022 kan man se en ny endring i emmtypene, der emm1 er tilbake som dominerende emm-type i Norge, tett etterfulgt av emm89. emm106 har falt sammenlignet med 2021, mens emm12 har en tydelig fremtredende rolle som ikke var synlig i 2021. Pandemi-tiltak og endrete reisevaner kan være årsak til disse endringene, men datagrunnlaget ble svært endret under pandemien og det er derfor ikke grunnlag nok for å konkludere. For å se ytterligere på den molekylærgenetiske sammenhengen mellom isolatene, ble en fylogenianalyse basert på sammenligning av sekvensrådata (fastq filer) for alle isolatene utført ved bruk av bioinformatikk dataprogrammet Mashtree. Metadata som ble lagt til det fylogenetiske treet er ST og emm-kluster. Resultatene ble deretter visualisert (figur 4) ved bruk av nettsiden Microreact. Fylogenien viser generelt sett god overensstemmelse mellom de ulike clustrene i treet, og ST- og emm-resultater, hvilket indikerer at verktøyene benyttet i rutinen for overvåkingen av mottatte S. pyogenes isolater (MLST og emmtyping) er tilstrekkelige for en god overordnet overvåking. Fylogenien (figur 4) viser at isolater som tilhører samme emm-kluster også klustrer fylogenetisk, men det kan være flere fylogenetiske klustre som knyttes til samme emm-kluster. Den viser også at isolater innad i samme fylogenetiske kluster kan ha ulik ST. Av de isolatene som klustrer fylogenetisk har alle isolatene samme emmtype (vises ikke direkte i figuren) og alle isolatene som har samme emmtype har enten samme sekvenstype eller sekvenstyper som er nært beslektet (1 allel forskjell). Dette indikerer at det er liten variasjon i ST innad i den samme emmtypen og viser at ST sammen med emmtyping funger godt i overvåkningsøyemed. Når vi ser nærmere på de største klustrene ser vi at et kluster stikker seg litt ut ved at alle isolatene utelukkende består av samme ST og samme emmtype, emm1/ST28. Det er imidlertid ikke epidiemiologisk holdepunkt for et uttbrudd av denne typen. Siden et økt antall av denne typen ble observert mot

slutten av året, ønsker man å gjøre en mer finmasket bioinformatisk analyse (SNP, haplotype). I samråd med FHI sykdomsansvarlige ble det sett på økningen og vurdert at man i Norge ikke skulle implementere smitteverntiltak ved påvisning av iGAS.

- 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)
    - Figurer GAS.docx
- 7. Samling av stammer og annet referansemateriale, eventuelle biobanker med tilhørende tillatelser
    - Alle mottatte stammer, også de som eventuelt innhentes i forbindelse med prosjekt, arkiveres i nasjonal stammebank.
- 8. Vitenskapelig råd og støtte
    - Laboratoriet bidrar med vitenskapelig råd og støtte ved behov.
- 9. Samarbeid og forskning
    - Referanselaboratoriet samarbeider med primærlaboratorier ved behov. Laboratoriet bidrar også til gjennomføring av det nasjonale ringtestprogrammet i bakteriologi. I 2021 ble det etablert et samarbeid mellom FHI og den europeiske dataplattformen ENA (European Nucleotide Archive), som ligger under det store internasjonale dataplattformen Elixir, for deling av NGS-sekvenser med primærlaboratorier. S. pyogenes blir en av de første agensene som vil bli inkludert i pilotprosjektet for datadelingen, som har vært i gang siden våren 2021 og har fortsatt hele 2022.
- 10. Organisatoriske-, administrative- og ressursmessige forhold knyttet til referansefunksjonen samt forutsetninger for videre drift
    - I løpet av de siste årene er det sett en endringer i virulensfaktorer for GAS som er viktig å følge med på utviklingen av. I 2022 ble det, også i media, fokus på skarlagensfeber; en sykdom forårsaket av GAS. Tilfellene ble overvåket nøye på FHI og viser til at grunnlaget for overvåkning er til stede. 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. Det forventes en lavere leveranse på overvåkningen av iGAS i 2023, som er ett av feltene som vil bli berørt av driftskuttbehov.

Tjenesten er levert av www.questback.com - Questback Essentials