Fra: "noreply@questback.net" <noreply@questback.net>
Sendt: torsdag 30. mars 2023 21:07:16
Til: "Postmottak (Ekstern post til arkivet)" <f-arkivar@helsedir.no>
Emne: Respons på Årsrapport fra laboratorium med nasjonal referansefunksjon i medisinsk mikrobiologi (23/5389)

aswe@fhi.no sine svar

- 1. Navn på laboratoriet
  - Folkehelseinstituttet
- 2. Oppgi hvilket agens det dreier seg om
  - Haemophilus influenzae
- 3. Innledning der smittestoffet kort omtales
  - Haemophilus influenzae er en Gram-negativ stavbakterie som opptrer med og uten polysakkarid-kapsel. Mennesket er bakteriens eneste naturlige reservoar. H. influenzae finnes ofte i normalfloraen i øvre luftveier, og kan gi ulike øvre luftveisinfeksjoner som otitt, sinusitt og bronkitt. Ved bæreskap og øvre luftveisinfeksjoner er bakterien oftest uten kapsel. H. influenzae kan også forårsake alvorlige, systemiske (invasive) infeksjoner slik som meningitt, pneumoni, sepsis, osteomyelitt og akutt epiglotitt (. Systemisk H. influenzae infeksjon er forårsaket av både kapsulære og akapsulære varianter. Kapselen hos H. influenzae er en viktig virulensfaktor og benyttes til å dele typbare isolater i 6 serotyper (a-f). Det er kapselpolysakkaridet som uttrykkes av kapsel-locuset som bestemmer serotypen til hvert H. influenzae isolat. De fleste isolatene uttrykker ikke kapsel og er dermed ikke-typbare (NT). Før vaksinen ble introdusert i 1992, var H. influenzae serotype b (Hib) en svært viktig årsak til systemisk sykdom hos små barn. En betydelig andel av pasientene fikk varige mén som hørselstap, mental retardasjon eller annen nevrologisk skade. Dødsfall var ikke uvanlig (3-8 %). I barnevaksinasjonsprogrammet gis Hib-vaksinen ved 3, 5 og 12 måneder, og vaksinen gir god beskyttelse. Vaksinen gis også til enkelte eldre barn eller voksne med utvalgte sykdommer som medfører nedsatt motstandskraft mot

kapselkledde bakterier. H. influenzae-meningitt har vært nominativt meldingspliktig til MSIS siden 1975, og fra 1993 har alle kliniske varianter av systemisk sykdom vært meldingspliktig.

- 4. Anvendt referansediagnostikk og analysemetoder (redegjør for eventuelle endringer)
    - I smittvernøyemed undersøkes isolater fra barn under 6 år med agglutinering for å sannsynliggjøre hvorvidt isolatet er Hib eller ikke. Dette skjer første arbeidsdag etter at prøven er ankommet referanselaboratoriet. Resultatene formidles både til rekvirent og til sykdomsansvarlige ved Folkehelseinstituttet. Ved infeksjon med Hib er det svært sjelden med sekundærtilfeller av Hib, men ved funn av denne serotypen gjennomføres en kartlegging om søsken og nærkontakter er vaksinert. Alle innsendte H. influenzae isolater ble helgenomsekvensert ved bruk av NGS-teknologi (Next Generation Sequencing). Prøvematerialet blir sådd ut, før kolonier blir høstet og DNA-ekstrahert på DNA-ekstraktor Magnapure 96 (fra Roche). For rutine helgenomsekvensering benyttes KAPA HyperPlus protokoll til biblioteksprepparering og Illumina platformer (MiSeq og NextSeq) til sekvensering. Helgenomsekvensering er en metode som benyttes til å identifisere tilstedeværelse/fravær av kjente gener for bakterien. Sekvensene blir deretter benyttet til å karakterisere isolatene ved bruk av de to typingsmetodene MLST (Multi locus sequence typing) og kapseltyping. MLST er en av de viktigste molekylære overvåkningsmetodene som benyttes til utredning av relasjoner mellom ulike stammer. Metoden er basert på å ekstrahere informasjon om et antall husholdningsgener (7 gener for H. influenzae). Ved å søke hver basesekvens for hvert gen i en database vil man få et allelnummer for hvert gen. Kombinasjonen av disse allelene gir en sekvenstype (ST) som brukes til karakterisering av bakterie-isolater. Det er bioinformatikk-programmet Hicap (https://github.com/scwatts/hicap som benyttes til å ekstrahere kombinasjonen av allelene i kapsel-locuset og gi ut et svar om isolatet er typbar og hvilken kapseltype den tilhører eller om den mangler

kapsel og er dermed ikke typbar (NT). Antistoffundersøkelser Kvantitering av IgG-antistoff mot Hib er en del av referansefunksjonen. Hoved-indikasjoner for undersøkelsen er utredning av immunsvikt hos barn, vaksinerespons hos voksne som er vaksinert på spesielle indikasjoner, samt spørsmål om vaksinasjon er gjennomført hos barn ved flytting til Norge. Analysen er en in-house ELISA metode (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) med kommersielt fremstilt Hib oligosakkarid konjugert til humant serum albumin, og bruk av standard med kjent nivå. Resistensundersøkelser I henhold til NORM-protokollen for 2020-2022 ble alle H. influenzae isolater mottatt ved referanselaboratoriet i 2022 følsomhetstestet. Utvalget av antibiotika er i samsvar med Arbeidsgruppen for antibiotikaspørsmål sine anbefalte resistenspaneler. Resistensbestemmelse av H. influenzae ble utført ved MIC-gradienttester i overensstemmelse med EUCAST metodikk. Resultatene for 2022-isolater er rapportert til NORM, og vil inngå i NORM/NORM-vet rapporten for dette året. Kvalitetskontroll Ved besøk av Norsk Akkreditering høsten 2019, ble vår metode for Identifisering av Neisseria ved hjelp av helgenomsekvensering akkreditert, og i 2022 også gruppe A streptokokker på fleksibel akkreditering. Det er planlagt å benytte fleksibel akkreditering for å få akkreditert flere agens analysert ved bruk av samme analyseprinsipp. FHI er i dialog med tidligere samarbeidspartnere for å se på muligheter for å få til en ringtest for molekylærkarakterisering av H. influenzae isolater.

- 5. Epidemiologiske data, bistand til overvåking, beredskap og respons ved utbrudd av smittsomme sykdommer
    - Figur 1 viser MSIS-tall over tilfeller av systemisk H. influenzae sykdom over tid, fordelt på alder 0-9år sammenliknet med pasienter som er 10 år og eldre og totaltallet. Figuren viser tydelig det markante fallet i tilfeller hos barn knyttet til innføringen av Hib-vaksinen i 1992, og at antallet har hold seg stabilt lavt hos dem. Samtidig ses en trend med gradvis økning av tilfeller hos pasienter 10 år og eldre med

unntak av covid-19 årene 2020 og 2021, og at disse utgjør hovedandelen av tilfellene totalt sett. I 2022 mottok FHI 134 H. influenzae isolater hvorav 128 var unike. Av de seks tilfellene hvor det var sendt to isolater, var de fleste fra ulike prøvematerialer (spinalvæske og blod).. De aller fleste isolatene (n=122) ble isolert fra blodkultur og spinalvæske (n=8). Resten av prøvene er opplyst å ha blitt isolert fra abscess (n=1), pleuravæske (n=1), halssekret (n=1) og bronkialskyllevæske (n=1). Flesteparten av 2022-prøvene er ikke-typbare (n=85) som også inkluderer isolater fra barn under 5 år, mens 15 isolater har kapseltype a, 12 har kapseltype b (hvorav 3 var fra et barn under 1 år), 17 har kapseltype f og 5 har kapseltype e. Figur 2 er en oversikt over antall H. influenzae isolater fordelt på kapseltypen for periode 2019 til 2022. Figuren viser en økning i antall type a isolater, sammenlignet med andre kapseltyper som enten har gått ned eller har holdt seg stabile. Videre ble datasettet benyttet til å sammenligne isolatene mot hverandre basert på sekvensdata fra helgenomsekvenseringsanalysen. Dette ble utført ved bruk av bioinformatikk-programmet Mashtree [2], som benytter rådatasekvenser (fastq) til å utføre en cluster-analyse. Fylogeni fra Mashtree er blitt visualisert (figur 3) ved bruk av det nettbaserte dataprogrammet Microreact [3] der metadata om ST og kapseltyping er lagt til. Fylogenien viser en inndeling av datasettet i mange ulike små klustre, og få isolater som er nært beslektet. Isolater med kapseltypene e og f er de som skiller seg mest ut genotypisk i forhold til resten av fylogenien, mens de med kapseltype a og b er mye nærmere beslektet. Generelt sett klustrer typbare isolater av samme kapseltype. Det er større diversitet mellom NT-isolatene, noe som gjenspeiler antall ST i datasettet. Klustret med kapseltype f inneholder høyest antall isolater med samme ST, ST124. Serotype a og b har begge hovedsakelig to sekvenstyper. Det er epidemiologiske holdepunkter for at klustrene ikke representerer utbrudd. For utbruddsovervåkning trenger man mer finmaskete analyser slik som single nucleotid polyformism (SNP)-analyser. Dette er foreløpig ikke

etablert i rutinen for H. influenzae. I 2022 ble det mottatt 30 prøver fra 27 personer for kvantitering av Hib IgG-antistoff. Dette er et noe lavere antall enn for tidligere år. Gjennomsnittsalder hos de prøvetatte personene var 25,2 år, mens median alder var 8 år. Av de 30 prøvene, ble ingen svart ut med at antistoffet var høyt, 16 med middels høyt, og 14 med lavt IgG-antistoffnivå.

- 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)
    - FHI_H. influenzae figurer 2022.docx
- 7. Samling av stammer og annet referansemateriale, eventuelle biobanker med tilhørende tillatelser
    - Alle mottatte stammer arkiveres i nasjonal stammebank med kvalitetssikret identifikasjon.
- 8. Vitenskapelig råd og støtte
    - Referanselaboratoriet samarbeider med primærlaboratorier ved behov. Laboratoriet bidrar også til gjennomføring av det nasjonale ringtestprogrammet i bakteriologi.
- 9. Samarbeid og forskning
    - I 2022 fortsatte vi samarbeidet med en forskningsgruppe ved Sykehuset i Vestfold som gjelder slektskap og forhold rundt antibiotikaresistens hos H. influenzae. Prosjektet har et sterkt fokus på bioinformatiske analyser. Prosjektet vil gjelde for unike isolater av H. influenzae sendt til FHI i perioden 2017-2023. Prosjektet bidro r som ledd i utdannelsen i folkehelsemikrobiologi (European Public Health Microbiology Training Programme, EUPHEM) i regi av det europeiske smitteverninstituttet ECDC fullført i 2022, og som masteroppgave i internasjonal samfunnsmedisin (planlegges innlevert 2023). Under ledelse av forskningsgruppen ved Sykehuset Vestfold, vil stammesamlingen også inngå i en postdoc-studie som handler om integrative-konjugative elementer og deres mulige hemmere. Prosjektet har foreløpig resultert i en publisert artikkel: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36106084/ Lenke til populærvitenskapelig omtale av prosjektene på CRISTIN:

https://app.cristin.no/projects/show.jsf?id=2511558
https://app.cristin.no/projects/show.jsf?id=2535061

- 10. Organisatoriske-, administrative- og ressursmessige forhold knyttet til referansefunksjonen samt forutsetninger for videre drift
    - o 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. I 2022 er alle prøver med potensielt tarmpatogene kulturer mottatt ved referanselaboratoriet undersøkt.

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