



Folkhälsomyndigheten

Nationella rekommendationer för prioritering av ehec-isolering



Utfärdad av Enheten för Laborativ Bakterieövervakning, Avdelningen för mikrobiologi

Version: 1.0

© Folkhälsomyndigheten, 2024.

Artikelnummer: 24240

Datum: 2024-11-26

Om publikationen

Dessa nationella rekommendationer för prioritering av ehec-isolering har tagits fram i samarbete med representanter från de regionala kliniska mikrobiologiska laboratorierna och smittskydds enheterna för en likriktad och ändamålsenlig hantering av ehec i landet. Rekommendationerna syftar till att använda tillgängliga resurser på bästa sätt samtidigt som ett effektivt smittskydd bibehålls och riktar sig till medarbetare vid kliniska mikrobiologiska laboratorier och smittskydds enheter.

Dokumenthistorik: Prioriteringskriterierna diskuterades vid dialogmöte 2024-02-09. Remissversion skickades ut 2024-04-03.

Kontaktperson: Inga Fröding, utredare, Enheten för laborativ bakterieövervakning.

Sara Byfors
Avdelningschef, Avdelningen för mikrobiologi

Innehåll

Nationella rekommendationer för prioritering av ehec-isolering	1
Om publikationen	3
Innehåll.....	4
Bakgrund.....	5
Rekommendationer för prioritering av isoleringsförsök.....	6
Kriterier för isoleringsförsök.....	7
Förstagångsprov	7
Prioritering genom ett tröskelvärde	7
Övriga aspekter.....	7
Tips för optimering av isoleringsförfarande	8
Ytterligare råd för val av primärdiagnostik	8
Kostnadsaspekter	8
Övrigt.....	9
Referenser	10
Bilaga 1: Ehec-isolering vid Folkhälsomyndigheten.....	11

Bakgrund

Förbättrad diagnostik och inkludering av ehec i allmän bakteriell fecesdiagnostik med PCR genererar många fler positiva ehec-prover än vad tidigare diagnostik utförd på riktad frågeställning gjorde. Detta innebär att allt mer resurser krävs för att utföra isoleringsförsök på ehec-positiva prover. Samtidigt är en omfattande isolering av ehec av stor vikt för ett effektivt smittskydd, inklusive smittspårning och kunskapsuppbyggnad. Tidig information om stx1/stx2 är viktigt för smittskyddsarbete och för att bedöma risk för HUS. Det är därför viktigt att särskiljning av stx1 och stx2 utförs skyndsamt på alla stx-positiva prover, om det inte automatiskt ingår i primärdiagnostiken.

För en likriktad och ändamålsenlig hantering i landet har nationella rekommendationer för prioritering av isolering av ehec tagits fram i samarbete med representanter från de regionala kliniska mikrobiologiska laboratorierna och smittskyddsenheterna. Rekommendationerna syftar till att använda tillgängliga resurser på bästa sätt samtidigt som ett effektivt smittskydd bibehålls.

Rekommendationer för prioritering av isoleringsförsök

I de fall ett laboratorium inte har möjlighet att utföra isoleringsförsök på samtliga stx-positiva prover som omfattas av det nationella mikrobiella övervakningsprogrammet för ehec, bör prioriteringskriterierna i detta dokument användas.

- Rekommendationerna är applicerbara när ehec-diagnostik ingår i allmän bakteriell fecesdiagnostik. Om ehec-diagnostik däremot endast utförs på patienter med riktad frågeställning om ehec bör isoleringsförsök utföras på alla stx-positiva prov.
- Isoleringsförsök bör åtminstone utföras på prover från nedanstående patientgrupper, se ”Kriterier för isoleringsförsök”. Regionala behov och överväganden i samråd med smittskyddsmyndighet kan medföra att vidare indikationer för isoleringsförsök än nedanstående används.
- Kliniska uppgifter för identifiering av allvarlig sjukdom, tas med i laboratoriets bedömning i mån av tillgänglighet. Om laboratoriet saknar dessa uppgifter behöver aktivt inhämtande inte ske från laboratoriet och isoleringsförsök behöver inte utföras primärt.
- Ehec/stx-positiva patientprover där isoleringsförsök ej utförs (eller ej lyckas) bör sparas i kylskåp eller som fryst primärsvep i minst 30 dagar så att isoleringsförsök kan göras på begäran av smittskydd eller behandlande läkare. Observera dock att chansen att isoleringsförsöket lyckas minskar över tid, där ehec kan tappa sina stx-kodande mobila genetiska element (MGE) både *in vivo* och *in vitro*. (1)

Mer information om [Mikrobiella och immunologiska övervakningsprogram](#).

Kriterier för isoleringsförsök

Förstagångsprov

Förstagångsprov samt uppföljande prov med identiskt PCR-resultat som ej isolerats tidigare, med följande indikationer:

Inhemsk smitta/okänt smittland/uppgift om smittland saknas

- Samtliga stx2-positiva prov, inklusive stx2+stx1 positiva prov
- Stx-positiva prov med okänd stx-typ
- Stx1-positiva prov från:
 - Patient med misstänkt eller bekräftad HUS
 - Barn 0 - 6 år
 - Inlagd patient
 - Anamnes som talar för allvarlig sjukdom/kolit (feber, blod i avföringen)

Utlandssmitta

- Alla Stx-positiva prov från:
 - Patient med misstänkt eller bekräftad HUS
 - Barn 0-6 år
 - Inlagd patient
 - Anamnes som talar för allvarlig sjukdom/kolit (feber, blod i avföringen)

Efter särskild begäran från beställare/smittskydd/vårdhygien

- Epidemiologisk koppling till gård aktuell för gårdsutredning
- Misstänkt utbrott
- Annan indikation

Prioritering genom ett tröskelvärde

Prioritering genom ett tröskelvärde baserat på Ct-värden kan vara lämpligt och rimligt om stamisolering sällan lyckas vid svaga PCR-resultat. Om en Ct-gräns används är det viktigt att ta hänsyn till eventuella skillnader i PCR-metoder och analysflöden mellan laboratorier inom regionen. Vid misstänkt eller bekräftad HUS bör dock isoleringsförsök utföras oavsett Ct-värde då isolering är extra viktigt vid denna diagnos.

Övriga aspekter

Laboratorier som utför primärdiagnostik för ehec, men inte själva utför isolering av ehec bör skicka prover som uppfyller ovanstående kriterier till annat laboratorium för isolering.

Vid misslyckat isoleringsförsök på prover från patienter med HUS bistår Folkhälsomyndigheten med stöd och vid behov extra isoleringsförsök. I dessa fall kontaktas Folkhälsomyndigheten via kundtjänst mikrobiologi 010-205 24 44, kundtjanst.mikrobiologen@folkhalsomyndigheten.se, för diskussion innan originalprover skickas till Folkhälsomyndigheten.

Tips för optimering av isoleringsförfarande

- Användning av en billig in-house PCR som detekterar toxingenerna stx1, stx2 och stx2f.
- Användning av selektiv agar som t.ex. CT-SMAC och/eller CHROMagar STEC i tillägg till en icke-selektiv (t.ex. SMAC) kan öka utbytet av vissa serotyper. Icke selektiv agar måste dock också användas eftersom alla serotyper inte växer på selektiva medier.
- Gör utstryket på primärplattan på ett sådant sätt att fria kolonier erhålls.
- Om första PCR-försöket blir negativt bör ytterligare kolonier analyseras med PCR för att identifiera ehec-stammen. Då är poolning av flera kolonier (5-10 st per pool) ett effektivt arbetssätt.

Utförlig beskrivning av den metod som används vid Folkhälsomyndighetens laboratorium finns i bilaga 1.

Ytterligare råd för val av primärdiagnostik

Vissa diagnostiska kit påvisar inte alla stx-subtyper. Särskilt stx2f som är genetiskt avvikande detekteras ofta inte av kommersiella kit (2). Samtliga stx-subtyper kan dock medföra HUS (3), och det är eftersträvarsvårt att alla stx-subtyper detekteras, åtminstone vid allvarliga fall och HUS. Risken för HUS vid stx2f-bärande ehec är dock lägre än vid t.ex. stx2a-bärande ehec och i motsvarande nivå som för stx1-bärande ehec. (3)

Om laboratoriets primärdiagnostik inte kan påvisa stx2f-bärande ehec är det därför önskvärt att prov från patienter med klinisk misstanke om ehec-infektion samt i synnerhet HUS-fall screenas med en stx2f-riktad PCR.

Kostnadsaspekter

Ehec är enligt smittskyddslagen klassad som allmänfarlig sjukdom och är smittspårningspliktig. I smittskyddslagen (2004:168) och SLIM-överenskommelsen (4) framgår regionernas ansvar för smittskyddsarbete respektive Folkhälsomyndighetens ansvar för nationell övervakning.

För ehec innebär detta att regionerna ansvarar för den diagnostik- och isoleringskostnad som är nödvändig ur smittskyddssynpunkt, vilket som miniminivå inkluderar alla prov som ingår i prioriteringskriterierna som anges ovan. Regionala överväganden och praktiska aspekter kan medföra att isoleringsförsök utförs på vidare indikationer. Folkhälsomyndigheten står för typning med

helgenomsekvensering av alla isolat som omfattas av det nationella mikrobiella övervakningsprogrammet och extra isoleringsförsök vid HUS. Folkhälsomyndigheten bistår även med råd och stöd till de mikrobiologiska laboratorierna.

Den aktuella prioriteringen av vilka prover som är viktigast att utföra ehec-isoleringsförsök på är ett sätt att hantera de ökande kostnader som den ökade påvisningen av ehec hos milda fall innebär. Prioriteringen innebär en balanserad avvägning mellan behovet av en bred typning för ett effektivt smittspårningsarbete och kostnaden för isolering och har tagits fram i samråd mellan Folkhälsomyndigheten, smittskyddsenheter och kliniska mikrobiologiska laboratorier. Kostnaden för isolering kan också hållas relativt låg om ovanstående tips för isoleringsförfarande följs.

Övrigt

Om ett laboratorium utvärderar och implementerar tröskelvärde baserat på Ct-värden för selektion av prover som isoleringsförsök utförs på, får man gärna dela resultat av sådan utvärdering med Folkhälsomyndigheten genom kontaktpersonen ovan.

Referenser

1. Senthakumaran T, Brandal LT, Lindstedt BA, Jørgensen SB, Charnock C, Tunsjø HS. Implications of stx loss for clinical diagnostics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2018;37(12):2361-70.
2. Cointe A, Birgy A, Pascault A, Louillet F, Dufougeray A, Mariani-Kurkdjian P, et al. Be aware of Shiga-toxin 2f-producing *Escherichia coli*: case report and false-negative results with certain rapid molecular panels. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2020;98(4):115177.
3. Panel EB, Koutsoumanis K, Allende A, Alvarez-Ordóñez A, Bover-Cid S, Chemaly M, et al. Pathogenicity assessment of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and the public health risk posed by contamination of food with STEC. *EFSA Journal*. 2020;18(1):e05967.
4. Folkhälsomyndigheten. Ett laboratorienätverk för smittskydd och mikrobiologi i Sverige - Överenskommelse om ansvar för funktioner av betydelse för ett laboratorienätverk 2015;2024-03-21 (<https://www.folkhalsomyndigheten.se/contentassets/588d98a6865d40d8a6b3e14aabfe6823/overenskommelse-laboratorienatverk-ansvar.pdf>).

Bilaga 1: Ehec-isolering vid Folkhälsomyndigheten

Vid isolering av ehec på Fohm används en in-house PCR som detekterar stx1, stx2, stx2f och eae i kombination med odling på selektiva plattor. Tillvägagångssätt:

- Odling av prov på SMAC, CT-SMAC och CHROMagar STEC. Utstryket görs på ett sådant sätt att fria kolonier kan identifieras.
- Från SMAC-plattan görs ett s.k. ”storkok”, dvs. ett svep med 10µL ögla från primärstryket som slammas i 5mL PBS och kokas i minst 20 min i 100°C. Röret centrifugeras och PCR körs på supernatanten.
 - Frånvaro av toxingener i storkoket innebär att provet inte innehåller ehec och inget isoleringsförsök görs.
 - Närvaro av toxingener i storkoket innebär att provet innehåller ehec och isoleringsförsök påbörjas.
- Avläsning av kolonimorfologi: Observera färg på kolonierna vid avläsningen av plattorna.
 - Bleka kolonier på SMAC platta är sorbitolnegativa, bl.a. ehec O157:H7. Sorbitolfermenterande bakterier växer med rosa/röda kolonier (övriga serotyper).
 - På CT-SMAC växer ehec O157 med bleka/färglösa kolonier medan övriga ehec/E. coli växer med rosa kolonier.
 - På CHROMagar STEC växer Stx-producerande E. coli med lila-bruna kolonier medan övriga Enterobacterales hämmas eller växer med blå eller ofärgade kolonier. Se bild på [CHROMagar STEC](#).
- Utifrån morfologin på plattorna avgörs hur vi går vidare.
- Fria kolonier från valda plattor tas/plockas med 1µL ögla, slammas i 100µL PBS, kokas i 12 min i 98°C. Märk tydligt på plattan vilka kolonier som plockats (om halv koloni plockas). Alternativt plockas en hel koloni och renstryks på en ny agarplatta varefter samma ögla slammas i 100 µL PBS. Företrädesvis plockas ca 5 kolonier från vardera CT-SMAC och CHROMagar STEC.
- Om första försöket, enligt punkt 5, blir negativt kan man behöva undersöka ytterligare fria kolonier. Då kan man poola ihop flera kolonier (t.ex. 5-10 st) i samma koklysat för att köra realtids-PCR på. För den PCR-pool som blir positiv får man sedan dela upp och köra kolonierna var för sig i PCR för att hitta ”rätt”.

Om ingen växt finns på de selektiva plattorna plockas fria kolonier från SMAC. Tänk på att plattan inte är selektiv och därför behöver flera kolonier plockas.

Den här publikationen innehåller rekommendationer för prioritering av ehec-isolering och riktar sig till dig som arbetar vid kliniska mikrobiologiska laboratorier och smittskyddsenheter.

Folkhälsomyndigheten är en nationell kunskapsmyndighet som arbetar för en bättre folkhälsa. Det gör myndigheten genom att utveckla och stödja samhällets arbete med att främja hälsa, förebygga ohälsa och skydda mot hälsot. Vår vision är en folkhälsa som stärker samhällets utveckling



Folkhälsomyndigheten

Solna Nobels väg 18, 171 82 Solna. **Östersund** Campusvägen 20. Box 505, 831 26 Östersund.

www.folkhalsomyndigheten.se