

EKSTERNE KVALITETSVURDERINGER I BAKTERIOLOGI, MYKOLOGI OG  
PARASITTOLOGI

Rapport fra strategimøte

Hovedredaktører: Jørgen Lassen og Per Sandven

Strategimøte nr 10, 1996:

# ***BAKTERIOLOGISKE FAECESUNDERSØKELSER***

*Revidert 2007 og 2011 (E. coli-diagnostikk)*

Redaktører:

Jørgen Lassen, Berit Hovig og Per Sandven

## Forord

Referansegruppen for eksterne kvalitetsvurderinger har tidligere arrangert ni såkalte "konsensusmøter". Begrepet "konsensusmøte" representerer imidlertid etterhvert en vel definert møte- og beslutningsprosess som våre møter aldri har tatt sikte på å dekke. For å hindre misforståelser har Styremøtet høsten 1995 derfor besluttet å endre navn *fra* "konsensusmøte" *til* "strategimøte". Denne navneendringen innebærer imidlertid ingen endring i de tidligere konsensusmøtenes formål eller utforming.

Det tiende av disse møtene ble avholdt 01.11.1996 og fortsatte 06.12.96 på Folkehelse med tema "Bakteriologiske fæcesundersøkelser". Programkomitèen, som også sto for møteledelsen, besto denne gang av Jørgen Lassen (formann), Martin Steinbakk og Ørjan Olsvik.

Opplegget var noe endret i forhold til tidligere, idet innlederne for hvert deltema nå var bedt om å ha ferdigstilt sine manuskripter i god tid *før* møtet. Hvert manuskript var forutsatt å fokusere på hvilke spørsmål man i særlig grad tok sikte på å diskutere under møtet. Manuskriptene ble deretter sendt ut til deltagerne 3-4 uker før møtet. Under møtet ble dermed innledningene til hvert tema kortet ned til et minimum og tiden praktisk talt i sin helhet benyttet til diskusjon. Manuskriptene er senere blitt rettet i henhold til diskusjonene.

Rapportens redaksjon er denne gang blitt ivaretatt av Jørgen Lassen, Berit Hovig og Per Sandven. Rapporten er inndelt i en "Oppsummering" av hvert enkelt innlegg og en del hvor manuskriptene til de enkelte innleggene er oppført i sin helhet. Den samlede oppsummering og den enkeltes eget innlegg har vært forelagt innlederne til godkjenning før endelig ferdigstilling.

Oslo, juni 1997

Jørgen Lassen

Berit Hovig

Per Sandven

## Program for møtet

### Tema

Prøvetaking / transport

"Rutinediagnostikk"

E.coli (EPEC/ETEC/EIEC/EHEC)

Clostridium difficile

Helicobacter pylori

Vibrionaceae/andre sjeldne agens

Næringsmiddelinfeksjoner/-  
intoksikasjoner

Resistensbestemmelse

Oppfølging/kontroll - enkeltpasient

Oppfølging/kontroll - utbrudd

Referansefunksjon

Sikkerhetsnivåer

Serologi

Parasittologi

Virologi

### Innleder

Turid Mannsåker

Lars Vorland, Martin Steinbakk

Jørgen Lassen

Petter Gaustad

Kjetil Melby

Ørjan Olsvik

Per Einar Granum

Arnfinn Sundsfjord

Jørgen Lassen

Georg Kapperud

Jørgen Lassen

Geir Bukholm, Berit Hovig

Trygve Tjade

Svein Gunnar Gundersen

Svein Arne Nordbø

Møteledere: Jørgen Lassen, Martin Steinbakk, Ørjan Olsvik

# Deltakeroversikt

01.11.96

Einar Aandahl  
LIMIK  
Bakteriologisk avdeling  
**2600 LILLEHAMMER**

Lars Bevanger  
Avdeling for mikrobiologi  
Regionsykehuset i Trondheim  
**7006 TRONDHEIM**

Geir Bukholm  
Kapt. W.Wilh. og Frues Bakt.  
Inst.  
Rikshospitalet  
Ullevålsvn. 33,  
**0171 OSLO**

Asbjørn Digranes  
Avdeling for mikrobiologi  
Gades Institutt  
**5021 BERGEN**

James Dunnford  
Mikrobiologisk laboratorium  
Sentralsjukehuset i Rogaland  
Bx.8100  
**4003 STAVANGER**

Per Einar Granum  
NVH  
P.box 8146 - Dep  
**0033 OSLO**

Svein Gunnar Gundersen  
Infeksjonsmed. avdeling  
Ullevål sykehus  
**0407 OSLO**

Åse-Gerd Hagen  
Mikrobiologisk avdeling  
Buskerud Sentralsykehus  
**3004 DRAMMEN**

Berit Hovig  
Lab. for klinisk mikrobiologi  
Peder Claussønsgt 2  
**0165 OSLO**

Åsa Kristina Nordius  
Mikrobiologisk avdeling  
Innherred sykehus  
**7601 LEVANGER**

Georg Kapperud  
Avdeling for bakteriologi  
Statens inst. for folkehelse  
Postboks 4404 Torshov  
**0403 OSLO**

Jørgen Lassen  
Avdeling for bakteriologi  
Statens nst. for folkehelse  
Postboks 4404 Torshov  
**0403 OSLO**

Arve Lystad  
Avdeling for bakteriologi  
Statens inst. for folkehelse  
Postboks 4404 Torshov  
**0403 OSLO**

Turid Mannsåker  
Mikrobiologisk laboratorium  
Sentralsykehuset i  
Sogn og Fjordane  
**6801 FØRDE**

Kjetil K. Melby  
Mikrobiologisk laboratorium  
Ullevål sykehus  
**0407 OSLO**

Liisa Mortensen  
Mikrobiologisk avdeling  
Nordland sentralsykehus  
**8017 BODØ**

Eivind Ragnhildstveit  
Mikrobiologisk laboratorium  
Østfold Sentralsykehus  
Postboks 1020  
**1601 FREDRIKSTAD**

Rolf Schøyen  
Mikrobiologisk laboratorium  
Vestfold sentralsykehus  
**3100 TØNSBERG**

Tone Skarpaas  
Mikrobiologisk avdeling  
Vest-Agder Sentralsykehus  
**4600 KRISTIANSAND**

Martin Steinbakk  
Mikrobiologisk avdeling  
Sentralsykehuset i Akershus  
**1474 NORDBYHAGEN**

Arnfinn Sundsfjord  
Mikrobiologisk avdeling  
Regionsykehuset i Tromsø  
**9438 BREIVIKA**

Gaute Syversen  
Mikrobiologisk laboratorium  
Ullevål sykehus  
**0407 OSLO**

Trygve Tjade  
Mikrobiologisk avdeling  
Sentralsykehuset i Akershus  
**1474 NORDBYHAGEN**

Yngvar Tveten  
Telelab A/S  
Postboks 1868 Gulset  
**3701 SKIEN**

Einar Vik  
Mikrobiologisk laboratorium  
Fylkessjukehuset i Molde  
**6400 MOLDE**

Lars H. Vorland  
Mikrobiologisk avdeling  
Regionsykehuset i Tromsø  
**9438 BREIVIKA**

# Deltakeroversikt

**06.12.96**

Einar Aandahl  
LIMIK  
Bakteriologisk avdeling  
**2600 LILLEHAMMER**

Peter Gaustad  
Kapt. W.Wilh. og Frues Bakt.  
Inst.  
Rikshospitalet  
Ullevålsvn. 33,  
**0171 OSLO**

Åse-Gerd Hagen  
Mikrobiologisk avdeling  
Buskerud Sentralsykehus  
**3004 DRAMMEN**

Nils Olav Hermansen  
Mikrobiologisk avdeling  
Buskerud Sentralsykehus  
**3004 DRAMMEN**

Tor Hofstad  
Avdeling for mikrobiologi  
Gades Institutt  
**5021 BERGEN**

**Berit Hovig**  
Lab. for klinisk mikrobiologi  
Peder Claussønsgt 2  
**0165 OSLO**

Jørgen Lassen  
Avdeling for bakteriologi  
Statens inst. for folkehelse  
Postboks 4404 Torshov  
**0403 OSLO**

Turid Mannsåker  
Mikrobiologisk laboratorium  
Sentralsykehuset i  
Sogn og Fjordane  
**6801 FØRDE**

Johan A. Mæland  
Avdeling for mikrobiologi  
Regionsykehuset i Trondheim  
**7006 TRONDHEIM**

Olav B. Natås  
Mikrobiologisk laboratorium  
Sentralsjukehuset i Rogaland  
Bx.8100  
**4003 STAVANGER**

Åsa Kristina Nordius  
Mikrobiologisk avdeling  
Innherred sykehus  
**7601 LEVANGER**

Eivind Ragnhildstveit  
Mikrobiologisk laboratorium  
Østfold sentralsykehus  
Postboks 1020  
**1601 FREDRIKSTAD**

Per Sandven  
Avdeling for bakteriologi  
Statens inst. for folkehelse  
Postboks 4404 Torshov  
**0403 OSLO**

Tone Skarpaas  
Mikrobiologisk avdeling  
Vest-Agder sentralsykehus  
**4600 KRISTIANSAND**

Martin Steinbakk  
Mikrobiologisk avdeling  
Sentralsykehuset i Akershus  
**1474 NORDBYHAGEN**

Gaute Syversen  
Mikrobiologisk laboratorium  
Ullevål sykehus  
**0407 OSLO**

Trygve Tjade  
Mikrobiologisk avdeling  
Sentralsykehuset i Akershus  
**1474 NORDBYHAGEN**

Yngvar Tveten  
Telelab A/S  
Postboks 1868 Gulset  
**3701 SKIEN**

Arne Ødegaard  
Mikrobiologisk laboratorium  
Fylkessjukehuset i Molde  
**6400 MOLDE**

# INNHALDSFORTEGNELSE

|             |                                                                                                               |           |
|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1.</b>   | <b>OPPSUMMERING OG ANBEFALINGER</b>                                                                           | <b>1</b>  |
| <b>1.1</b>  | <b>Prøvetaking og transport</b>                                                                               | <b>1</b>  |
| 1.1.1       | Generelt                                                                                                      | 1         |
| 1.1.2       | Prøvetaking                                                                                                   | 1         |
| 1.1.3       | Transport                                                                                                     | 1         |
| <b>1.2</b>  | <b>"Standarddiagnostikk" for <i>Salmonella</i>, <i>Shigella</i>, <i>Campylobacter</i> og <i>Yersinia</i>.</b> | <b>2</b>  |
| 1.2.1       | Indikasjoner                                                                                                  | 2         |
| 1.2.2       | Påvisning                                                                                                     | 2         |
| 1.2.3       | Identifikasjon                                                                                                | 3         |
| <b>1.3</b>  | <b>Utvidet diagnostikk</b>                                                                                    | <b>3</b>  |
| 1.3.1       | <i>E. coli</i>                                                                                                | 3         |
| 1.3.2       | <i>Clostridium difficile</i>                                                                                  | 6         |
| 1.3.3       | <i>Helicobacter pylori</i>                                                                                    | 8         |
| 1.3.4       | <i>Vibrionaceae</i>                                                                                           | 9         |
| 1.3.5       | <i>Clostridium perfringens</i> og <i>Bacillus cereus</i>                                                      | 11        |
| <b>1.4</b>  | <b>Resistensbestemmelse</b>                                                                                   | <b>12</b> |
| 1.4.1       | Indikasjoner                                                                                                  | 12        |
| 1.4.2       | Metoder                                                                                                       | 12        |
| 1.4.3       | Anbefalinger for de enkelte bakteriegrupper                                                                   | 12        |
| <b>1.5</b>  | <b>Serologiske undersøkelser</b>                                                                              | <b>13</b> |
| <b>1.6</b>  | <b>Intestinal parasittologi</b>                                                                               | <b>14</b> |
| 1.6.1       | Indikasjoner                                                                                                  | 14        |
| 1.6.2       | Metoder                                                                                                       | 14        |
| 1.6.3       | Serologi:                                                                                                     | 14        |
| <b>1.7</b>  | <b>Virologi</b>                                                                                               | <b>15</b> |
| 1.7.1       | Indikasjoner                                                                                                  | 15        |
| 1.7.2       | Metoder                                                                                                       | 15        |
| <b>1.8</b>  | <b>Oppfølging/ kontroll av enkeltpasient</b>                                                                  | <b>16</b> |
| 1.8.1       | Formål                                                                                                        | 16        |
| 1.8.2       | Risikogrupper                                                                                                 | 16        |
| 1.8.3       | Forslag til kontrollprøver av bærere av enteropatogene agens                                                  | 17        |
| <b>1.9</b>  | <b>Oppfølging - utbrudd</b>                                                                                   | <b>18</b> |
| 1.9.1       | Erkjenne utbrudd                                                                                              | 18        |
| 1.9.2       | Varsling                                                                                                      | 18        |
| 1.9.3       | Karakterisere utbruddet (hvem, hva og når?)                                                                   | 18        |
| 1.9.4       | Motivere og gi råd                                                                                            | 18        |
| 1.9.5       | Undersøkelse av prøver                                                                                        | 18        |
| 1.9.6       | Pasient-kontroll-undersøkelse ("case-control-studie")                                                         | 18        |
| <b>1.10</b> | <b>Sikkerhetsnivåer ved fæcesdiagnostikk i norske medisinsk-mikrobiologiske laboratorier.</b>                 | <b>19</b> |

|                                                                                                                                                                                      |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>2. FOREDRAGENE</b>                                                                                                                                                                | <b>20</b> |
| <b>2.1 Prøvetaking og transport av fæcesprøver ved GI-infeksjoner</b>                                                                                                                | <b>20</b> |
| 2.1.1 Anbefalinger vedrørende prøvetaking/prøvemateriale                                                                                                                             | 20        |
| 2.1.2 Anbefalinger vedrørende transport/oppbevaring                                                                                                                                  | 21        |
| <b>2.2 Isolering og identifisering av <i>Salmonella</i>, <i>Shigella</i>, <i>Yersinia</i> og <i>Campylobacter</i>.</b>                                                               | <b>23</b> |
| 2.2.1 Indikasjon for dyrking av tarmpatogene bakterier <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Yersinia</i> og <i>Campylobacter</i>                                                 | 23        |
| 2.2.2 Sammendrag: Forslag til undersøkelse og utsæd av fæcesprøver.                                                                                                                  | 32        |
| 2.2.3 Oversikt over utsæd av fæcesprøver.                                                                                                                                            | 33        |
| 2.2.4 Referanser                                                                                                                                                                     | 33        |
| <b>2.3 <i>E. coli</i>.</b>                                                                                                                                                           | <b>35</b> |
| <b>2.4 <i>Clostridium difficile</i> assosiert sykdom: laboratoriediagnostikk</b>                                                                                                     | <b>40</b> |
| 2.4.1 Retningslinjer for undersøkelse på <i>Cl. difficile</i> og/eller dens toksiner.                                                                                                | 41        |
| 2.4.2 Prøvetaking og transport.                                                                                                                                                      | 42        |
| 2.4.3 Laboratoriediagnostikk.                                                                                                                                                        | 42        |
| <b>2.5 Mikrobiologisk diagnostikk av <i>Helicobacter pylori</i></b>                                                                                                                  | <b>45</b> |
| 2.5.1 Direkte påvisning av <i>H. pylori</i> .                                                                                                                                        | 45        |
| 2.5.2 Annen mikrobiologisk diagnostikk av <i>H. pylori</i> infeksjon (Indirekte påvisning)                                                                                           | 46        |
| <b>2.6 Vibrionaceae. Andre sjeldne bakterier.</b>                                                                                                                                    | <b>48</b> |
| <b>2.7 Resistensbestemmelse av enteropatogene bakterier</b>                                                                                                                          | <b>51</b> |
| <b>2.8 Serologiens plass ved diagnostikk av og komplikasjoner etter salmonelloser, shigelloser, yersinioser, campylobacteriose, kolera og <i>Helicobacter pylori</i>-infeksjoner</b> | <b>55</b> |
| <b>2.9 Parasittologi</b>                                                                                                                                                             | <b>61</b> |
| 2.9.1 Forslag til oppgavefordeling i norsk parasittologi                                                                                                                             | 62        |
| <b>2.10 Virusdiagnostikk - indikasjoner og metoder</b>                                                                                                                               | <b>63</b> |
| <b>2.11 Oppfølging - kontroll. Enkeltpasient.</b>                                                                                                                                    | <b>65</b> |
| <b>2.12 Oppklaring av utbrudd med næringsmiddelbåren sykdom</b>                                                                                                                      | <b>70</b> |
| 2.12.1 Anbefalinger: laboratorienes oppgaver                                                                                                                                         | 75        |
| <b>2.13 Referansefunksjoner - enteropatogene mikrober.</b>                                                                                                                           | <b>79</b> |
| <b>2.14 Sikkerhetsnivåer ved fæcesdiagnostikk i norske medisinske mikrobiologiske laboratorier</b>                                                                                   | <b>83</b> |
| 2.14.1 Arbeidsmiljølovens bestemmelser                                                                                                                                               | 83        |
| 2.14.2 Genteknologilovens bestemmelser                                                                                                                                               | 85        |
| 2.14.3 Europeisk standard - CEN                                                                                                                                                      | 86        |
| 2.14.4 Sammenfatning og problemer                                                                                                                                                    | 86        |

|           |                                                                                                                                                |           |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>3.</b> | <b>ENDRINGER 2011</b>                                                                                                                          | <b>88</b> |
| 3.1       | Praktisk-kliniske definisjoner:                                                                                                                | 88        |
| 3.2       | Indikasjoner for undersøkelse på EHEC og EPEC som kan være EHEC-LST                                                                            | 88        |
| 3.2.1     | Ved kliniske symptomer                                                                                                                         | 88        |
| 3.2.2     | Ved smitteoppsporing (rundt et EHEC-tilfelle, utbrudd)                                                                                         | 89        |
| 3.3       | Laboratoriediagnostikk av EHEC og "EPEC som kan være EHEC-LST"                                                                                 | 89        |
| 3.3.1     | Ved klinisk indikasjon (syk pasient)                                                                                                           | 89        |
| 3.3.2     | Ved smitteoppsporing (friske bærere) rundt enkeltkasus og ved utbrudd                                                                          | 90        |
| 3.4       | Indikasjoner for undersøkelse av EPEC ( <i>eae</i> -positive <i>E. coli</i> )                                                                  | 91        |
| 3.4.1     | aEPEC                                                                                                                                          | 91        |
| 3.4.2     | tEPEC                                                                                                                                          | 91        |
| 3.5       | Lab-diagnostikk av EPEC ( <i>eae</i> -positive <i>E. coli</i> )                                                                                | 91        |
| 3.6       | Indikasjoner for og påvisning av EAEC                                                                                                          | 92        |
| <b>4.</b> | <b>Vedlegg: Begrunnelse for endringer i diagnostikk av tarmpatogene <i>E. coli</i> i forhold til strategirapport 1996 med endringer i 2007</b> | <b>93</b> |
| 4.1       | Innledning/bakgrunn                                                                                                                            | 93        |
| 4.2       | Enteropatogene <i>E. coli</i> (EPEC)                                                                                                           | 94        |
| 4.2.1     | Diagnostikk av EPEC                                                                                                                            | 95        |
| 4.2.2     | Smittevern EPEC                                                                                                                                | 95        |
| 4.3       | Enterohemorragiske <i>E. coli</i> (EHEC)                                                                                                       | 96        |
| 4.3.1     | Definisjon                                                                                                                                     | 96        |
| 4.3.2     | EHEC virulensmarkører                                                                                                                          | 96        |
| 4.3.3     | Epidemiologi og klinisk bilde                                                                                                                  | 97        |
| 4.3.4     | Antibiotikabehandling?                                                                                                                         | 97        |
| 4.3.5     | Smittevern ved påvist EHEC                                                                                                                     | 97        |
| 4.4       | Vurdering av shigatoksin-tester                                                                                                                | 98        |
| 4.4.1     | Sensitivitet og spesifisitet                                                                                                                   | 99        |
| 4.5       | Kromogene agarmedier og andre spesialmedier til påvisning av <i>E. coli</i> i feces, med særlig vekt på EHEC.                                  | 100       |
| 4.5.1     | Oppsummering/konklusjon                                                                                                                        | 101       |
| 4.6       | Enteroaggregative <i>Escherichia coli</i> (EAEC)                                                                                               | 102       |
| 4.6.1     | Definisjon                                                                                                                                     | 102       |
| 4.6.2     | Patogenese                                                                                                                                     | 102       |
| 4.6.3     | Klinisk bilde                                                                                                                                  | 102       |
| 4.6.4     | Epidemiologi                                                                                                                                   | 102       |
| 4.6.5     | Indikasjon for diagnostikk av EAEC i Norge                                                                                                     | 102       |
| 4.6.6     | Påvisning og identifikasjon av EAEC                                                                                                            | 103       |
| 4.6.7     | Konklusjon EAEC                                                                                                                                | 103       |

# 1. OPPSUMMERING OG ANBEFALINGER

---

## 1.1 Prøvetaking og transport

### 1.1.1 Generelt

- Postverkets krav til forsendelse av biologisk materiale må følges
- Transporten skal være så rask som mulig og bør ikke overskride ca. 30 timer
- Det skal ikke samles opp prøver tatt over flere dager

### 1.1.2 Prøvetaking

- Fæces med mest mulig slim, blod eller puss  
For *V.cholerae*: Eventuelt fra riskornholdige porsjoner  
Ved næringsmiddelintoksikasjon: Også oppkast
- Rectalpensel (NB! innenfor sphincter): Nødløsning ved defekasjonsproblemer
- Prøve tatt ved proktoskopi/sigmoidoskopi
- For *Helicobacter pylori*: Biopsi fra ventrikkelens corpus og antrum (inflammert område) ved endoskopi

### 1.1.3 Transport

#### Bakteriologi:

- Dyrkning av enteropatogene bakterier:  
Ca. 1 full prøveskje, i Cary-Blair- medium hvis transport >4 timer.  
Transport <4 timer kan skje uten conserveringsmedium  
For *V.cholerae*: Alkalisk peptonvann (hvis tilgjengelig) eller Cary-Blair.
- Dyrkning og toksinundersøkelse av *Cl.difficile*/ EHEC:  
> 5 ml uten tilsetning (ca. 1/2 fullt glass). Rask transport er viktig, < 24 timer. Ved lengre transport bør prøven sendes nedkjølt.
- Ved mistanke om næringsmiddelbåren infeksjon/ intoksikasjon (Staph. aureus/B.cereus/ *Cl.perfringens*):  
Minimum 1 full prøveskje uten tilsetning. Rask transport er viktig!
- For *Helicobacter pylori*: Sendes i spesialrør med Stuarts medium eller i Portagerm pylori-medium

#### Virologi (antigenpåvisning):

- Tas så tidlig som mulig i sykdomsforløpet.
- Minimum 1 cm<sup>3</sup> fæces sendes *uten* tilsetning
- Nedkjøling vanligvis ikke nødvendig
- Bør ikke fryses og tines

#### Parasittologi:

Ved kraftig diarè og muligheter for påvisning av trofozoitter:

- Ved transporttid < ½ time: slim- eller blodholdige klatter i beholder uten tilsetning for direkte mikroskopi
- Ved transporttid > ½ time: slim- eller blodholdige klatter sendes i emballasje med polyvinylalkohol (PVA) som fikseringsvæske for fremstilling av farget preparat  
Uten diarè er sjansen for påvisning av trofozoitter liten.  
Egg og cyster kan påvises etter transport i beholder uten tilsetning.

## 1.2 "Standarddiagnostikk" for *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter* og *Yersinia*.

### 1.2.1 Indikasjoner

"Standarddiagnostikk" omfatter diagnostikk av *Salmonella*/ *Shigella*/ *Campylobacter* og *Yersinia* og vil være aktuell ved alle vanlige bakteriologiske fæcesundersøkelser. Dette representerer vanligvis ikke nosokomiale infeksjoner. Nosokomial diarè som opptrer >3 dager etter innleggelse, er derfor ingen primær indikasjon for denne undersøkelsen.

Ved "standard"-campylobacterdiagnostikk er det bare aktuelt å påvise termofile arter som *C.jejuni*, *C.coli* og *C.lari*. Øvrige *Campylobacter*-arter og *Arcobacter* kan være aktuelle ved kroniske diarèer hos immunkompromitterte. Ved "standard"-yersiniadiagnostikk er det bare aktuelt å påvise *Y.enterocolitica*.

### 1.2.2 Påvisning

Påvisning forutsetter en kombinasjon av ikke-selektive-, selektive-, differensierings- og anrikningsmedier.

Man kan velge mange forskjellige medier (hvert medium kan i enkelte situasjoner være bedre enn et annet) eller basere seg på en rutine med et minimalt antall forskjellige medier (som bedømt ut fra funn, positivrate og ulike kontroller synes å gi best utbytte). Forslag til primærmedier i henholdsvis et "stort" og et "minimums"-oppsett er anført i nedenstående tabell. "Stort oppsett" omfatter samtlige anførte medier. "Minimumsoppsett" omfatter medier anført med kursiv.

| Medie-type     | Ikke selektiv             | Diff. medium                        | Selektiv Sal/Shig/Yersinia | Selektiv Yersinia       | Selektiv Camp.*                            | Anrikn . Salm.         | Anrikn. Salm/Shigella | Anrikn. Yersinia |
|----------------|---------------------------|-------------------------------------|----------------------------|-------------------------|--------------------------------------------|------------------------|-----------------------|------------------|
| Primær-medier  | Laktose/ Blåskål          | Stor LSU<br><i>XLD</i> <sup>1</sup> | Deoxy <sup>2</sup>         | <i>CIN</i> <sup>3</sup> | <i>CCDA</i> <sup>4</sup>                   | Tetra-thionat          | <i>Selenitt</i>       | Selenitt         |
| Inkuba-sjon    | 37°C<br>24-48 timer       |                                     |                            | 29°C<br>24-48 t.        | 42°C<br>Mikroaer.<br>24-48 t               | 37°C<br>24 t.          |                       | 22°C<br>24 t     |
| Sekund.-medier | Laktose<br>+<br>liten LSU |                                     |                            |                         | <i>CCDA</i><br>x 3                         | Laktose<br>+<br>desoxy |                       | <i>CIN</i>       |
| Inkuba-sjon    | 37°C<br>24 timer          |                                     |                            |                         | 37°C<br>1.Mikroaer<br>2.Anaerob<br>3.Aerob | 37°C<br>24 timer       |                       |                  |

\*: Ved undersøkelse mhp. andre *Campylobacter*-arter enn de termofile, er det aktuelt å bruke membranfiltermetoden.

- 1: Laktose-sakkarose-urease agar og xylose-lysin-deoxycholat agar
- 2: Deoxycholatcitrat-agar
- 3: Cefsulodin-irgasan-novobiocin agar
- 4: Charcoal-cefoperazone-deoxycholat agar

### 1.2.3 Identifikasjon

Identifikasjon omfatter vanligvis en biokjemisk identifikasjon til genus- eller speciesnivå supplert med en serologisk identifikasjon til species- eller serovar.nivå.

Alle laboratorier bør kunne identifisere samtlige aktuelle genus, samt de alvorligste og hyppigste species/serovar.

Innen Salmonella-gruppen dreier det seg om *S.Typhi* (9-12:Vi:d:-), *S.Paratyphi A* (2-12:a:-), *S.Paratyphi B* (4-5-12:b:1.2), *S.Typhimurium* (4-5-12:i:1.2) og *S.Enteritidis* (9-12:gm:-).

Innen Shigella-gruppen dreier det seg om å identifisere de 4 species. Det er tilstrekkelig med polyvalente sera for hver av artene.

Innen Yersinia-gruppen dreier det seg om å identifisere *Y.enterocolitica* gr. 3.

Ytterligere karakterisering av isolater som uansett sendes til referanselaboratorium er ikke nødvendig. For isolater som ikke sendes referanselaboratorium bør ytterligere karakterisering avtales innen regionen.

| Agens                              | Biokjemi                                                                              | Serologi                                                                                                                          |
|------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Salmonella<br>Shigella<br>Yersinia | API 20E<br>eller<br>3-rørs-forgj. inkl. ONPG + LDC<br>eller tilsvarende               | Salm.: O:4-5-12 og O: 9-12,<br>H:a, H:b, H:d, H:i og H:gm<br>Shig.: Polyvalente sera for hver av<br>de fire species<br>Y.ent. O:3 |
| Campylobacter                      | (Morfologi, vekstkrav,<br>beveglighet, oxydase, evt. hippurat<br>og videre biotyping) | Ikke tilgjengelig                                                                                                                 |

### 1.3 Utvidet diagnostikk

Ved utvidet diagnostikk undersøkes det også med henblikk på agens som ikke inngår i "standarddiagnostikken". Ved slik diagnostikk skal det foreligge særskilte kliniske, epidemiologiske og/eller bakteriologiske indikasjoner.

#### 1.3.1 *E. coli*

Det er i praksis 4 ulike aktuelle grupper, hhv. enteropatogene (EPEC), enterotoksogene (ETEC), enteroinvasive (EIEC) og enterohemorragiske *E.coli* (EHEC). I tillegg finnes et par grupper som det foreløpig ikke foreligger rutinediagnostiske metoder for.

Gruppene skiller seg med henblikk på patogenese, klinikk og epidemiologi og har følgelig ulike indikasjoner.

### 1.3.1.1 Indikasjoner<sup>1</sup>

Forslag til indikasjoner er:

| Agens | Indikasjoner                                                                                                      |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| EPEC  | Diarèutbrudd blant barn < 2 år i institusjon.<br>Kronisk diarè hos barn < 2 år                                    |
| ETEC  | Hyppigste årsak til turistdiarè, men er nesten alltid overstått før hjemkomst.<br>Praktisk talt ingen indikasjon. |
| EIEC  | Dysenteri etter utenlandsreise + shigellalignende isolat                                                          |
| EHEC  | Hemorrhagisk kolitt. HUS.<br>Bør undersøkes i løpet av de første 5 <i>dager</i> etter sykdomsdebut.               |

---

#### <sup>1</sup> Endret 15.08.2007 og 01.05.2011:

2007: Anbefalte indikasjoner og diagnostiske metoder for EHEC ble endret i 2007. EHEC-infeksjoner har fått en stadig økende aktualitet. Særlig for små barn kan konsekvensene av en EHEC-infeksjon være svært alvorlige og det kan være for sent å iverksette eventuelle undersøkelser når HUS først er utviklet. Det anbefales derfor at bakteriologiske fæcesundersøkelser hos alle barn under en gitt alder med diarè også omfatter EHEC. Videre er det blitt klart at antall aktuelle serovarianter blir stadig større og at E.coli O157:H7 nå utgjør kanskje mindre enn 1/3 av alle EHEC-tilfellene i Norge. De diagnostiske metodene bør derfor være i stand til å fange opp EHEC generelt, ikke bare O157. Arbeidsgruppen i 2007 var nedsatt av Referansegruppen og besto av Jørgen Lassen (leder), Reidar Hjetland og Jan Egil Afset.

2011: E. coli feces diagnostikken har blitt revidert. Hovedfokus denne gangen har vært å spisse diagnostikken i henhold til klinikk og smitteoppsporing og også å forenkle og strømlinjeforme logistikken i diagnostikken, samt å rettlede primærlaboratoriene i håndteringen ved funn av EPEC. Arbeidsgruppen har bestått av Jan Egil Afset, Reidar Hjetland, Ståle Tofteland og Astrid Louise Wester (leder). Forslaget ble sendt til en uformell høring via Mikinfo i januar/februar 2011, og møtte kun forslag om enkelte presiseringer, som er innarbeidet.

**Se Del 3 – Endringer** (2007-utgaven av dette kapittelet er innarbeidet i 2011-arbeidsgruppens anbefalinger), og **Del 4 - Vedlegg: Begrunnelse for endringer i diagnostikk av tarmpatogene E. coli.**

### 1.3.1.2 Diagnostikk<sup>1</sup>

|                 |                                                                                                                                         |
|-----------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Primærmedier:   | Blåskål , laktoseskål eller MacConkey<br>For EHEC: Sorbitolskål i tillegg                                                               |
| Inkubasjon:     | 18-24 timer, 37°C                                                                                                                       |
| Sekundærmedier: | Blåskål<br>For EPEC: + bløtskål for agglutinasjon<br>For ETEC: + tryptose soy buljong for toksinpåvisning<br>For EIEC: som for Shigella |
| Identifikasjon: | Biokjemi som E.coli (NB! Isolatene <i>kan</i> være laktosenegative!)                                                                    |

### Forslag til E.coli-diagnostikk ved henholdsvis lokalt og referanselaboratorium

| Agens | Lokalt laboratorium                                                                                                                                                                                                                               | Referanselaboratorium                                                                                                               |
|-------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| EPEC  | Agglutinasjon av > 10 kolonier i polyvalent OK-antisera. Ved positivitet:<br><ul style="list-style-type: none"><li>- teste i monoval. OK-antisera</li><li>- koke, titrere i spesifikk O-antisera</li><li>- evt. sende til referanselab.</li></ul> | Serogruppering i presumptiv og konfirmativ test.<br><br>DNA-metode vil bli innført                                                  |
| ETEC  | Ytterst sjelden indisert. Evt. sende et "strøk" med > 10 E.coli-kolonier til ref.lab.                                                                                                                                                             | Toksinpåvisning:<br><ul style="list-style-type: none"><li>- Lt ved ELISA</li><li>- St ved "infant mouse test" eller ELISA</li></ul> |
| EIEC  | Ved dysenterilignende bilde og isolasjon av en inaktiv E.coli (som regel anaerogen, non-motil og LDC-negativ): sendes til referanselab.                                                                                                           | PCR-undersøkelse mhp invasivitet                                                                                                    |
| EHEC  | Teste > 10 E.coli-kolonier mhp. sorbitolforgj., aggl. i E.coli O:157<br>Ved positivitet: sendes til ref.lab.<br><br>Ved negativitet og fortsatt klinisk mistanke: sende et "strøk" med øvrige E.coli-kolonier, evt. avføring, til ref.lab.        | Serotyping<br><br>Toksinpåvisning ved PCR-undersøkelse                                                                              |

<sup>1</sup> Se fotnote på s. 4, Del 3 – Endringer og Del 4 – Vedlegg: Begrunnelse for endring i diagnostikk av tarmpatogene *E. coli*

### 1.3.2 *Clostridium difficile*

*Cl. difficile* er årsak til ca 30% av alle tilfelle med antibiotikaassosiert diarè, 30 - 70% av alle antibiotikaassosierte kolitter og mer enn 90% av alle pseudomembranøse kolitter. Diagnosen er mest aktuell ved nosokomiale infeksjoner, men må i særskilte tilfelle også vurderes hos ikke-hospitaliserte pasienter.

#### 1.3.2.1 Indikasjon

- Pasienter som har fått antibakteriell eller cytostatika behandling i de siste 6-8 uker og som utvikler (i) diarè med mer enn 6 uformede avføringer i løpet av 36 timer *eller* (ii) puss-holdige og/eller blodige avføringer *eller* (iii) feber og abdominal-smerter uten annen forklaring (også ved obstipasjon eller ileus).
  - Pseudomembranøs kolitt, også uten diarè
  - Ved opphoping av tilfeller i en avdeling: Bærerundersøkelser av pasienter, personale samt relevante miljøundersøkelser
- Kontrollprøver etter vellykket behandling er *ikke* nødvendig

#### 1.3.2.2 Diagnostikk

Diagnostikken omfatter:

*Toksinpåvisning:* Dette er den avgjørende diagnostikken. Mikroben danner to toksiner (A eller "enterotoksin" og B eller "cytotoksin"). De er vanligvis begge tilstede og undersøkelse mhp på ett av dem (vanligvis toksin A) er derfor ofte *tilstrekkelig*. Av og til kan bare ett av toksinene påvises og undersøkelse mhp på begge er derfor *optimalt*.

*Dyrkning:* Dette er nødvendig ved henholdsvis (i) epidemiologiske undersøkelser (påvisning av toksin er da ikke avgjørende) og (ii) for å kunne skille mellom residiv og reinfeksjon hos den enkelte pasient.

*Påvisning av *Cl.difficile*-antigener:* Bruk av *latexagglutinasjon* eller *immunfluorescens* er ikke anbefalt. *PCR-metoder* for påvisning av både mikroben og toksinene er eller vil bli tilgjengelige.

*Toksinpåvisning:*

Påvisning av fritt toksin i avføringen er tilstrekkelig for å stille diagnosen. Toksin A påvises ved kommersielle ELISA-metoder. Det finnes også en kommersiell ELISA-metode som tar toksin A og B sammen. I praksis er det disse metodene som er aktuelle for mindre laboratorier. PCR-metoder vil bli tilgjengelig.

Toksin B påvises ved cytopatogen effekt i ulike cellelinjer som nøytraliseres med spesifikt *Cl.sordelli*-antitoksin. Undersøkelsen er forbeholdt laboratorier som arbeider med cellekulturer. PCR-metoder vil bli tilgjengelige.

*Dyrkning:*

Indikasjon:

- Mistanke om *Cl.difficile*-infeksjon uten at det er påvist fritt toksin

Medier:

- Epidemiologiske undersøkelser
- Primærmedium: CCFA-agar (cycloserin-cefoxitin-fruktose-agar). Bruk av hesteblood gir bedre vekst og øker graden av fluorescens
- Anrikningsmedium: HI-buljong med doble konsentrasjoner av cycloserin og cefoxitin

Inkubasjon:

37°C, 24 - 48 timer

Identifikasjon:

- Kolonimorfologi, karakteristisk lukt og fluorescens.
- Toksigenitet identifiseres bare ved toksinundersøkelse

Markørundersøkelser:

- Antibiotikaresistensmønster
- Serologi (ikke aktuell i Norge)
- Fagtyping (ikke aktuell i Norge)
- Genotypi (ved Folkehelsen)

### 1.3.3 *Helicobacter pylori*

#### 1.3.3.1 Indikasjon

- Ulcus ventriculi / ulcus duodeni
- Kronisk gastritt, evt. annen ventrikkelsykdom hvor *H.pylori* kan være en faktor av betydning

#### 1.3.3.2 Diagnostikk

*Dyrkning:*

Medium: Blodagar / sjokoladeagar / Wilkinson Chalgren-agar

Inkubasjon: 7 - 14 dager, mikroaerofilt i 37°C

Identifikasjon: Biokjemi: Urease +, oxidase +, katalase +  
Antibiogram: Nalidixin resistent, cefalotin følsom  
Mikroskopi: Små, komma eller spiralformede Gramneg. staver  
Resistensbestemmelse: Bør foretas med E-test

*Serologi:*

Metode: Kvantitativ ELISA for påvisning av IgG-antistoffer som forsvinner eller reduseres sterkt (> 50%) innen 6 mndr. etter vellykket behandling

Indikasjoner: Tilbys høyprevalensgrupper som defineres i samråd med fylkets gastroenterologer og infeksjonsmedisinere

### 1.3.4 *Vibrionaceae*

Til denne familien hører *Vibrio*, *Aeromonas*, *Plesiomonas* og *Photobacterium*, hvorav de tre førstnevnte er aktuelle i denne sammenhengen.

#### 1.3.4.1 *Vibrio cholerae*

Epidemisk kolera forårsakes av *V.cholerae* O1 (biotypene "El Tor" og "klassisk", serotypene "Ogawa" og "Inaba"). I de siste årene er også en sannsynlig mutant av denne, O139, aktuell. *V.cholerae* non-O1 og non-O139 kan gi alvorlige diar er i enkelttilfeller, men er ikke årsak til større epidemier.

##### 1.3.4.1.1 Indikasjon

- Epidemiologisk begrunnet mistanke om kolera
- Massiv vandig diar , eventuelt risvanndiar  etter opphold i endemiske områder

##### 1.3.4.1.2 Diagnostikk

*Dyrkning:*

Medier:

Prim ersk ler:

Ikke selektive: Blåskål/MacConkey e.l.

Selektiv: TCBS (thiosulfat-citrat-bile-salt-sakkarose)

NB! Kort holdbarhet!

Anrikningsmedium: Alkalisk peptonvann

Sekund ersk l:

TCBS + Blåskål

*Inkubasjon:* 18-24 timer, 35-37 C

*Identifikasjon:*

Morfologi:

"Grampreparat" som bare farves med Gram IV (karbolfuchsin) i fortykning 1:10 (Resultatet er ikke konklusivt!)

Biokjemi:

3-rørs-forgjæring, API 20E

Serologi:

*V.cholerae* anti O1 (som alle laboratorier bør ha), O139 og faktor Ogawa- og Inaba-antisera finnes ved referanselaboratoriet

Toksin:

Kommersielle kit. ELISA. PCR.

Resistensbestemmelse:

I prinsippet ikke nødvendig

#### Serologi:

Pasientene danner vibriocidale antistoffer, men undersøkelse mhp. disse er uten betydning i det enkelte, akutte tilfelle.

#### 1.3.4.2 Andre *Vibrio* spp.

De viktigste species her er *V.parahaemolyticus*, *V.mimicus*, *V.hollisae*, *V.fluvialis* og *V.furnissi*. *V.mimicus* ligner svært på *V.cholerae*, de øvrige krever minst 1% salt for å vokse. Ofte forbundet med inntak av sjømat.

Påvisning skjer som for *V.cholerae*, alle vokser på TCBS skål (*V.hollisae* riktignok dårlig).

Identifikasjonen skjer på biokjemisk grunnlag.

Ingen av disse agens ser ut til å være nevneverdig aktuelle i Norge.

#### 1.3.4.3 *Aeromonas* og *Plesiomonas*

Er isolert med tiltagende hyppighet de senere år både i Europa generelt og i Norge.

Er påvist signifikant hyppigere hos diarèpasienter, men også hos friske. Den patogene betydning i sporadiske enkelttilfeller er dermed usikker. *Plesiomonas* kan gi alvorlige diarèer hos AIDS-pasienter.

*Aeromonas* er en heterogen gruppe. Det er idag minst 5 biokjemisk definerte species og minst 12 genotyper.

*Plesiomonas* finnes bare som en species (*P. shigelloides*), men med ulike serovar. Enkelte har antigent slektskap med *Sh.sonnei*.

##### 1.3.4.3.1 Indikasjoner

- Diarè, særlig etter sjømatanamnese (ferskvann, brakkvann eller saltvann)
- Vannbårne utbrudd

##### 1.3.4.3.2 Diagnostikk

###### Dyrkning

###### Medier:

Blåskål / laktoseskål / MacConkey

Ved særlig mistanke: Inosit-gallesalt-briljantgrønt-agar som selektivt medium

###### Inkubasjonstid:

18-24 timer, 35-37°C

###### Identifikasjon:

###### Biokjemi:

Oxidase +, API 20E o.a. (NB! *Aeromonas* kan forveksles med *E.coli* på en blå- eller laktoseskål hvis man ikke undersøker mhp. oxidase)

### **1.3.5 *Clostridium perfringens* og *Bacillus cereus***

Disse artene er sannsynligvis årsak til de fleste næringsmiddelinfeksjoner og -intoksikasjoner når vi holder virus i vann utenfor. Sykdommene er vanligvis kortvarige og langt de fleste oppsøker ikke lege. Mye tyder likevel på at en del *B.cereus*-stammer er mer virulente enn tidligere antatt.

#### **1.3.5.1 Indikasjon**

Akutte "eksplosjonsutbrudd" med enten kraftig vandig diarè (*Cl.perfringens* og *B.cereus*) eller bare oppkast (*B.cereus*). Ofte relatert til et kjøkken eller et måltid.

#### **1.3.5.2 Diagnostikk**

Diagnostikken omfatter både dyrkning av agens og toksinpåvisning.

##### *Dyrkning:*

Medier:

Primærmedier: Ikke selektiv:

Blodskål x 2

Selektiv:

For *Cl. perfringens*: TSC (tryptose-sulfit- cycloserin)

For *B. cereus*: *Bac.cereus* skål - Oxoid

Utsæd: Kvantitativt med 0,1 ml pr skål.

##### *Inkubasjon:*

Blodskålene:

Aerobt og anaerobt ved 37°C, 1-2 døgn

TSC:

Anaerobt ved 37°C i 1-2- dager

*B.cereus*-skål:

Anaerobt ved 30°C i 1-2 døgn

##### *Identifikasjon:*

Kolonimorfologi:

*Cl.perfringens*:

Anaerob blodskål: dobbelhemolyse

TSC: sorte kolonier, ikke beveglige

*B.cereus*:

Anaerob blodskål: hemolyse

Selektiv skål: blå kolonier med sone rundt

Biokjemi:

Laktose. Beveglighet.

##### *Toksinpåvisning:*

Utføres ved Norges veterinærhøgskole, Postboks 8146, Dep., 0033 Oslo.

## 1.4 Resistensbestemmelse

### 1.4.1 Indikasjoner

- Pasientrelaterte indikasjoner avhengig av infeksjonskarakteristika og mikrobefunn
- Regionale og nasjonale behov for overvåking av resistensutvikling
- Kan anvendes som en epidemiologisk markørundersøkelse

### 1.4.2 Metoder

*For Enterobacteriaceae:* Agardiffusjonsmetode med depottabletter/-lapper

*For kravfulle langsomtvoksende bakterier (Campylobacter og Helicobacter):* E-test

### 1.4.3 Anbefalinger for de enkelte bakteriegrupper

Anbefalte indikasjoner, undersøkelsesrepertoar og rapporteringsrutiner:

| Agens         | Indikasjoner                                       | Undersøkelsesrepertoar                                                                                          | Rapporteringsrutiner                                                                                                                                    |
|---------------|----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Salmonella    | Gjøres rutinemessig                                | Ampicillin, fluorokinolon, kloramfenikol, trimetoprim-sulfa.<br><br>Ceftriaxone hos barn og ved multiresistens. | <i>Selektiv</i> rapportering ved kompliserte infeksjoner og kronisk bærerskap.<br><br>Ved rutinemessig rapportering bør veiledende kommentarer medfølge |
| Shigella      | Gjøres rutinemessig                                | Ampicillin, fluorokinolon, trimetoprim-sulfa.<br><br>Ceftriaxone hos barn og ved multiresistens.                | Rutinemessig rapportering                                                                                                                               |
| Yersinia      | Gjøres rutinemessig                                | Aminoglykosid, doxycyclin, fluorokinolon, trimetoprim-sulfa                                                     | <i>Selektiv</i> rapportering ved kompliserte eller kroniske infeksjoner.<br><br>Ved rutinemessig rapportering bør veiledende kommentarer medfølge       |
| Campylobacter | Bare i spesielle situasjoner og ved komplikasjoner | Erytromycin, tetracyclin.<br><br>Ved bakteriemi: + gentamicin                                                   | Rapporteres når undersøkelsen er gjort                                                                                                                  |
| Helicobacter  | Gjøres rutinemessig                                | Amoxicillin/ampicillin, klaritromycin, metronidazole, tetracyclin                                               | Rutinemessig rapportering                                                                                                                               |

## 1.5 Serologiske undersøkelser

Serologiske undersøkelser omfatter normalt antistoffsvar mot O-antigener (lipopolysakkaridantigener) og/eller H-antigener (proteinantigener). Antistoff mot O-antigenene er på grunn av mange kryssreaksjoner relativt uspesifikke, men antistoff mot H-antigenene er betydelig mer spesifikke. O-antistoffer reduseres forholdsvis raskt (i løpet av måneder) og et høyt titer kan derfor likevel være utsagnskraftig. H-antistoffene består derimot over lang tid (år) og et slikt titer sier derfor lite om infeksjonstidspunktet.

Infeksjoner med enteropatogene agens gir alt i alt ofte både sene og upålitelige antistoffsvar. *En akutt diarè er derfor i seg selv ingen indikasjon for serologiske undersøkelser.* Både spesifisitet og sensitivitet er for dårlig. Slike undersøkelser kan likevel være nyttige ved enkelte komplikasjoner. Ved mistanke om *S. Typhi*-bærersituasjon kan undersøkelse av antistoff mot kapselantigenet Vi være aktuelt.

### 1.5.1 Indikasjoner, metoder og forslag til utførende institusjon

| Agens          | Indikasjon                                                                                                                                                                                                                                                                    | Metode                                                                                        | Utførende instans                                                                                                                                                   |
|----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Salmonella     | Komplikasjoner som <ul style="list-style-type: none"><li>• reaktiv artritt</li><li>• Reiters syndrom</li><li>• erythema nodosum</li><li>• pseudoappendicitt</li></ul>                                                                                                         | Klassisk (Widal) agglutinasjon med O- og H-antigener                                          | Regionlaboratorier                                                                                                                                                  |
| S.Typhi        | Mistanke om bærersituasjon                                                                                                                                                                                                                                                    | Aggl. med Vi-antigen                                                                          | Referanselaboratoriet                                                                                                                                               |
| Shigella       | Ingen                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                               |                                                                                                                                                                     |
| Yersinia       | Komplikasjoner som <ul style="list-style-type: none"><li>• reaktiv artritt</li><li>• erythema nodosum</li><li>• mesenterial adenitt</li><li>• terminal ileitt</li><li>• exudativ faryngitt</li></ul>                                                                          | <ul style="list-style-type: none"><li>• Agglutinasjon</li><li>• ELISA m/ IgM og IgG</li></ul> | Y.ent. O3: <ul style="list-style-type: none"><li>• alle laboratorier</li></ul> Andre yersinia-var.: <ul style="list-style-type: none"><li>• Referanselab.</li></ul> |
| Campylo-bacter | Ved komplikasjoner, først og fremst <ul style="list-style-type: none"><li>• Guillain-Barrè</li><li>• arthritter</li></ul>                                                                                                                                                     |                                                                                               | Er ikke etablert i Norge                                                                                                                                            |
| Helico-bacter  | <ul style="list-style-type: none"><li>• Høyprevalensgrupper som defineres i samråd med fylkets gastroenterologer og infeksjonsmedisinere (&lt; 45 år med typisk ulcusklinikk)</li><li>• Evt. behandlingskontroll (etter tidligst 6 mnd.) hvis en 0-prøve foreligger</li></ul> | Kvantitative IgG-ELISA-tester                                                                 | Alle laboratorier.<br><br>Systemer for bruk i allmennpraksis anbefales foreløpig ikke brukt.                                                                        |
| V.cholerae     | Nesten aldri indisert. Evt. etter alvorlig diarè uten bakteriologisk dyrkning hvor diagnosen er ønskelig av epidemiologiske grunner                                                                                                                                           | Klassisk agglutinasjon                                                                        | Referanselab.                                                                                                                                                       |

## 1.6 Intestinal parasittologi

*Protozoer*: Vanligste aktuelle agens er *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* og *Cryptosporidia*. De foreligger i en vegetativ trofozoittform eller en cystisk hvileform. Ved kraftig *diarè* ser man etter trofozoitter, ved *fast avføring* ser man etter cyster.

*Helminther*: Vanligste aktuelle agens er *Ascaris lumbricoides*, *Strongyloides*, hakeorm, bendelmark, *Schistosoma*. Man ser etter helminthen, ledd eller egg.

### 1.6.1 Indikasjoner

- Generell indikasjon for parasittologisk fæcesdiagnostikk er klinikk kombinert med reise til endemisk område og (vanligvis) negativ bakteriologi
- Undersøkelse med henblikk på *Ascaris* og *Giardia* kan være aktuell uten forutgående reise
- Undersøkelse med henblikk på *Cryptosporidia* kan være aktuell ved immundefekt (NB! AIDS-pasienter)

### 1.6.2 Metoder

Påvisning:

- Avføring kan mikroskoperes direkte som en screening for parasitter
- Sensitiviteten øker betydelig hvis man gjennomfører formol-eter-konsentrering og mikroskoperer bunnfallet
- Det finnes kits for immunologisk påvisning (IF, ELISA) av parasitter (kryptosporidier, *Giardia* o.a.), men nytten er omdiskutert

### 1.6.3 Serologi:

Mest aktuell for:

- *Entamoeba histolytica* ved mistanke om ekstraintestinal amøbiasis
- *Schistosoma*

Undersøkelsene utføres ved Ullevål sykehus.

## 1.7 Virologi

Det finnes en rekke virus som gir symptomer fra mage/tarmkanalen, herunder rotavirus, enteriske adenovirus, calicivirus, inkl. Norwalk virus, astrovirus og SRSV (små runde strukturerte virus). Akutte eller kroniske tarmsymptomer fra immunsupprimerte (også AIDS) er også indikasjon for CMV-undersøkelse.

### 1.7.1 Indikasjoner

- Gastroenteritter hos småbarn
- Lokale utbrudd av akutt mage/tarmsykdom
- Utbrudd på institusjoner (sykehus, barnehjem, alders- og sykehjem osv)
- Mistanke om mat- eller vannbåren infeksjon
- Mistanke om neonatal infeksjon - også *uten* tarmsymptomer

### 1.7.2 Metoder

*Agenspåvisning:*

- Rotavirus og enteriske adenovirus kan påvises med kommersielle ELISA- eller latexagglutinasjons (LA)-reagenser. Laboratorier uten virologisk seksjon bør idag disponere disse metodene
- LA-testene krever lite utstyr, er enkle og raske, men kan gi uspesifikke reaksjoner i fæces fra nyfødte og spedbarn. De er vanligvis litt mindre sensitive enn de beste ELISA-testene
- Forøvrig brukes elektronmikroskopi eller immunelektronmikroskopi ved regionlaboratorier / referanselaboratorier
- PCR-metoder er tatt i bruk ved noen region-/referanselaboratorier, og genteknologiske tester forventes å få stor betydning for denne diagnostikken

*Serologisk diagnostikk:*

- Det finnes kommersielle reagenser for påvisning av antistoff mot rotavirus og enteriske adenovirus (KBR, ELISA, IF), men sensitiviteten er lav og undersøkelsene lite aktuelle

## **1.8 Oppfølging/ kontroll av enkeltpasient**

### **1.8.1 Formål**

Oppfølging av enkelttilfeller har som siktemål ved:

- a. *Anbefalte* kontrollprøver fra *risikogrupper* å hindre utbrudd eller at særlig infeksjonsømfintlige personer blir smittet
- b. *Frivillige* kontrollprøver fra *ikke-risikogrupper* å hindre kontaktsmitte, men også å kunne dokumentere at vedkommende ikke lenger er bærer av patogene agens

### **1.8.2 Risikogrupper**

Følgende defineres som tilhørende risikogrupper:

- a. Ansatte i næringsmiddelindustri, restaurantbransjen, storkjøkkensystemer, handel o.l som kommer i direkte kontakt med næringsmidler som tilbys publikum og som skal nytes rå eller uten ytterligere oppvarming
- b. Helsepersonell med direkte kontakt med særlig infeksjonsutsatte pasientgrupper
- c. Barn < 5 år i institusjon
- d. Andre som har problemer med å ivareta en tilfredsstillende personlig hygiene

### 1.8.3 Forslag til kontrollprøver av bærere av enteropatogene agens

NB! Kontroll av pasienter som fortsatt har symptomer er ikke nødvendig!

| Agens                                   | Kontrollprøver                                   |                     |                                 |           | Epidemiologiske undersøkelser                                    |
|-----------------------------------------|--------------------------------------------------|---------------------|---------------------------------|-----------|------------------------------------------------------------------|
|                                         | Tid mellom prøvene ved asymptomatisk positivitet |                     | Krav til antall negative prøver |           |                                                                  |
|                                         | Risikogr                                         | Andre               | Risikogr                        | Andre     |                                                                  |
| Salmonella - tyfoïdgruppen <sup>§</sup> | ukentlig                                         | ukentlig - månedlig | 5                               | 3         | Nærkontakter, kontakter i risikogrupper                          |
| Salmonella - gastroenterittgr.          | ukentlig                                         | månedlig            | 3                               | 0-3       | Nærkontakter, kontakter i risikogrupper. Mistenkte næringsmidler |
| Sh. dysenteriae. og Sh. boydii          | ukentlig                                         | hver 2. uke         | 3                               | 3         | Ved sykdom hos nærkontakter ogblant kontakter i risikogrupper    |
| Sh.sonnei og Sh.flexneri                | ukentlig                                         | månedlig            | 3                               | 0-3       |                                                                  |
| Campylobacter                           | ukentlig                                         | ikke                | 1-2                             | ikke      |                                                                  |
| Yersinia                                | ukentlig                                         | nødvendig           | 1-2                             | nødvendig |                                                                  |
| V.cholerae                              | Bærersituasjon forekommer praktisk talt ikke     |                     | 2                               | 2         | Mistenkte vann-/ næringsmidler og brukere av disse. Nærkontakter |
| Andre Vibrio sp./ Aerom./Plesiom.       | Oppfølgingsprøver er ikke nødvendig              |                     |                                 |           |                                                                  |
| E.coli                                  |                                                  |                     |                                 |           |                                                                  |
| EHEC                                    | ukentlig                                         | hver 2. uke         | 3-5                             | 1-3       | Nærkontakter, kontakter i risikogrupper                          |
| EPEC/ETEC                               | Oppfølgingsprøver er ikke nødvendig              |                     |                                 |           |                                                                  |
| EIEC                                    | Som ved Shigella dysenteriae/Sh.boydii           |                     |                                 |           |                                                                  |

<sup>§</sup> Gjør evt. også bruk av duodenal aspirat og serologisk undersøkelse mhp. Vi-antistoff.

## **1.9 Oppfølging - utbrudd**

Laboratorienes oppgaver ved et eventuelt utbrudd vil bl.a. omfatte følgende oppgaver:

### **1.9.1 Erkjenne utbrudd**

*Lokale, større utbrudd* erkjennes ved påvisning av samme agens i et påfallende høyt antall prøver. Laboratoriepersonellet bør sensibiliseres for mulighetene av at utbrudd kan oppstå og hvordan dette kan oppdages og rapporteres.

*Regionale, evt. landsomfattende utbrudd* erkjennes ofte av Referanselaboratoriet ved at det sendes inn et påfallende høyt antall av samme agens fra ulike laboratorier.

### **1.9.2 Varsling**

*Laboratoriene* skal ved mistanke varsle:

1. Helsetjenesten i de(n) berørte kommunen(e)
2. Referanselaboratoriet for evt. samarbeid om markøranalyser

*Kommunehelsetjenesten* skal varsle:

1. Det kommunale næringsmiddeltilsyn
2. MSIS

### **1.9.3 Karakterisere utbruddet (hvem, hva og når?)**

Laboratoriene bør bistå kommunehelsetjenesten med å karakterisere utbruddets omfang og etiologi bl.a. ved : Antall pasienter, sykdomsdebut for den enkelte pasienten, deres alders-, kjønns- og geografiske fordeling, eventuelt tidligere funn av samme agens.

### **1.9.4 Motivere og gi råd**

Kommunehelsetjenesten har ansvaret for å lede og organisere arbeidet med å oppklare utbrudd. I praksis vil dette være avhengig av samarbeid med det lokale næringsmiddeltilsynet og mikrobiologisk laboratorium.

Prinsippene for oppklaring av utbrudd er anført i MSIS-rapportene 13/96 og 14/96. Det er utarbeidet forslag til spørreskjema med tilhørende instruks som kan anvendes ved intervju av pasientene.

### **1.9.5 Undersøkelse av prøver**

Kommunehelsetjenesten *i samråd med laboratoriet* bør legge opp undersøkelsesprogram fra henholdsvis pasienter, kontakter, mistenkte bærere og eventuelle risikogrupper.

Alle, eventuelt et representativt utsnitt, av isolatene bør sendes Referanselaboratoriet så snart som mulig for verifisering, typing og undersøkelse av epidemiologiske markøranalyser.

### **1.9.6 Pasient-kontroll-undersøkelse ("case-control-studie")**

Hvis pasient-kontroll-undersøkelser er nødvendige for å identifisere smitekilden, bør planlegging og gjennomføring av dette skje i samarbeid med sentrale instanser (f.eks. Folkehelsa) med erfaring på området.

## **1.10 Sikkerhetsnivåer ved fæcesdiagnostikk i norske medisinsk-mikrobiologiske laboratorier.**

Det ventes nye forskrifter om vern av arbeidstakere mot farer ved arbeid med biologiske faktorer i henhold til Arbeidsmiljøloven av 1977 (ennå ikke vedtatt i april 1997). Det forventes at innholdet i forskriftene vil svare til utkast datert februar 1996. Dette er bygget opp på samme måte som forskriftene til genteknologiloven (av 1993) som ble fastsatt i 1994. Ny europeisk standard på dette området, med tildels strengere innredningskrav til laboratoriene enn de nye arbeidsmiljøforskriftene, er under arbeid. Dette kan senere få konsekvenser for norske forhold.

Begge forskriftene inneholder liste med klassifikasjon av mikroorganismer etter en samlet farlighetsgrad i 4 risikogrupper med tilhørende beskrivelse av inneslutningsnivå i laboratoriet. Klasse 1 er de minst farlige ("forårsaker sannsynligvis ikke sykdom hos mennesker") , klasse 4 de farligste. De fleste tarmpatogene bakterier er i klasse 2, mens to, *Shigella dysenteriae* og *Salmonella typhi*, er klassifisert i klasse 3. For begge er det gitt merknad om at de normalt ikke smitter gjennom luften. For disse to agens skal arbeidet foregå i klasse 3-laboratorier, for de øvrige er det tilstrekkelig med klasse 2-laboratorier.

Forskriftene beskriver både bygningsmessige og prosedyremessige krav i de ulike inneslutningsnivåene. Det er tvilsomt om eksisterende norske medisinsk-mikrobiologiske laboratorier fyller kravene til inneslutningsnivå 3. De kommende europeiske forskriftene har forøvrig til dels enda strengere bestemmelser enn forslaget til arbeidsmiljøforskrift innebærer.

Når forskriftene foreligger, vil det åpenbart bli behov for oppklaringsrunder med Statens helsetilsyn, blant annet om hvilke arbeidsoperasjoner som vil kreve klasse 3-laboratorier og hvordan disse må være innredet for å fylle kravene. Foreløpig må hver enkelt anvende sitt eget faglige skjønn i forhold til virksomheten på eget laboratorium.

## 2. FOREDRAGENE

---

### 2.1 Prøvetaking og transport av fæcesprøver ved GI-infeksjoner

Turid Mannsåker, Sentralsjukehuset i Sogn og Fjordane

For å oppnå optimal mikrobiologisk diagnostikk ved gastrointestinale infeksjoner, er det svært viktig med et godt samarbeid mellom det mikrobiologiske laboratorium og rekvirentene.

Krav som rekvirenten må kunne stille til det mikrobiologiske laboratorium vil i denne sammenheng omfatte følgende:

- at laboratoriets anbefalinger tilfredsstiller faglige kvalitetskrav, og at de tilflyter rekvirentene uten anmodning
- at laboratoriet sørger for tilbakemelding om evt. feil og mangler ved rekvirentenes praktisering av anbefalte rutiner
- at laboratoriet sender ut utstyr for prøvetaking og forsendelse, evt. informerer om hvor utstyr kan skaffes
- at laboratoriet sørger for tilstrekkelig informasjon om eventuelle undersøkelser som må utføres ved andre laboratorier

Forutsatt at laboratoriet oppfyller disse krav, må det til gjengjeld kunne kreves av rekvirentene at anbefalinger blir fulgt vedrørende:

- indikasjon for undersøkelsen
- kvaliteten på prøvetaking/-materiale
- valg av prøvetakingsutstyr
- reglementert forsendelse
- godt utfyllt rekvisisjon

#### 2.1.1 Anbefalinger vedrørende prøvetaking/prøvemateriale

GENERELT:

Fæces med mest mulig slim/blod/puss

evt. rektalpensel i spesielle tilfeller

evt. prøve fra lesjoner ved proktoskopi/sigmoidoskopi

BAKTERIOLOGISKE UNDERSØKELSER:

"Standardundersøkelse" (*Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *Campylobacter*)

Min. 1 full prøveskje i Cary-Blair-medium

Evt. rektalpensel i Cary-Blair-medium

prøve daglig dersom det tas flere

#### *E.coli* (EPEC/EHEC/EIEC/ETEC)

- Bare dyrkning: Som ved "standardundersøkelse"
- Toksin-u.s: ca.1/3 (>5ml) prøvebeholder uten tilsetting

#### *S.aureus*, *B.cereus*, *Cl.perfringens* (ved mulig næringsmiddeloverført infeksjon)

- Min. 1 full prøveskje uten tilsetting

#### *Cl.difficile*, dyrkning + toksinundersøkelse (ved mulig antibiotika-assosiert diarre)

- ca.1/3 prøvebeholder (>5 ml) uten tilsetting.
- prøve hver 2.dag dersom det tas flere

#### *Vibrio*

- Min. 1 full prøveskje i Cary-Blair-medium
- prøve daglig dersom det tas flere

### PARASITTOLOGISKE UNDERSØKELSER

#### *Cyster + egg*

- ca.1/3 beholder uten tilsetting
- prøve hver 2.dag dersom det tas flere

#### *Trophozoitter*

- ca.1/3 full beholder uten tilsetting
- prøve hver 2.dag dersom det tas flere
- NB! Bakteriell årsak til diarre skal utelukkes først!

### VIRUSPÅVISNING (hurtigmetoder)

- ca.1/3 full beholder uten tilsetting

## 2.1.2 Anbefalinger vedrørende transport/oppbevaring

### Generelt

- Postverkets krav til forsendelse av biologisk/ smittefarlig materiale må følges. Dvs tett beholder m.skrulokk, ytterhylse av slagkraftig plast, merket konvolutt.
- Forsendelsen skal skje så raskt som mulig.
- Det skal ikke samles opp prøver tatt over flere dager.
- Som hovedregel oppbevares prøven i kjøleskap inntil forsendelse og etter mottak i lab.

### "Standardundersøkelse" og *E.coli*

- Prøver i Cary-Blair-medium kan sendes/oppbevares inntil 48 t ved romtemp., bør oppbevares i kjøleskap når mulig.

### Næringsmiddeloverførte bakt., andre

- Kan sendes/oppbevares inntil 12 t, helst nedkjølt (kjøleskaptemp.)

### *Cl.difficile*

- Kan sendes/oppbevares inntil 24 t, må sendes nedkjølt dersom lengre tid før undersøkelse i lab.

### Cyster + egg

- Kan sendes/oppbevares inntil 24 t ved romtemp.

### Trofozoitter

- Prøve uten tilsetning må undersøkes innen 30 min dersom flytende, innen 60 min dersom "myk".  
Dette innebærer at prøvetaking må skje i nærhet av der prøven skal undersøkes.

### Virus (hurtigmetoder)

- Varighet av transporten er ikke kritisk.
- Prøven oppbevares i kjøleskap når mulig

| AGENS                                               | PRØVE-<br>MATERIALE                   | TRANSPORT/OPPBEVARING                                                                                 |                                | GJENTATTE<br>PRØVER |
|-----------------------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|---------------------|
|                                                     |                                       | u/tilsetning                                                                                          | m/tilsetning                   |                     |
| Salmonella<br>Shigella<br>Yersinia<br>Campylobacter | full prøveskje i<br>Cary-Blair-medium | < 2-4t                                                                                                | 48 t v/romtemp.                | 1 daglig            |
| E.coli<br>(EPEC/EHEC/<br>EIEC/ETEC)                 | full prøveskje i<br>Cary-Blair-medium | < 2-4t                                                                                                | 48 t v/romtemp.                | 1 daglig            |
| toksinpåvisning                                     | 1/3 full beholder                     | < 24 t v/romtemp<br>> 24 t nedkjølt                                                                   | -<br>-                         |                     |
| Næringsmiddelinf<br>.<br>S.aur./B.cer.<br>Cl.perfr. | 1/3 full beholder                     | < 12 t, helst nedkjølt                                                                                | -                              |                     |
| Cl.difficile<br>dyrkn. +<br>toksinpåvisn.           | 1/3 full beholder                     | < 24 t v/romtemp.<br>> 24 t nedkjølt                                                                  | -                              | 1 hver 2. dag       |
| Vibrio                                              | full prøveskje i<br>Cary-Blair-medium | -                                                                                                     | < 24 t<br>v/romtemp.           | 1 daglig            |
| Parasitter<br>Rutine egg +<br>cyster                | 1/3 full beholder                     | < 24 t v/romtemp<br>flytende fæces:<br>< 30 min<br>v/romtemp.<br>bløt fæces:<br>< 60 min<br>v/romtemp | -<br>-<br>Flere dager i<br>PVA | 1 hver 2. dag       |
| Trophozoitter                                       |                                       |                                                                                                       |                                |                     |
| Virus (antigen)                                     | full prøveskje                        | < 48 timer                                                                                            | -                              | -                   |

## **2.2 Isolering og identifisering av *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* og *Campylobacter*.**

Lars Vorland<sup>1</sup> og Martin Steinbakk<sup>2</sup>

Mikrobiologisk avd., Regionsykehuset i Tromsø<sup>1</sup> og Mikrobiologisk avd., Sentralsykehuset i Akershus<sup>2</sup>.

### **2.2.1 Indikasjon for dyrking av tarmpatogene bakterier *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* og *Campylobacter***

Alle pasienter med diare kan undersøkes mhp tarmpatogene bakterier. Prøver som ikke er transportert forskriftsmessig bør avvises. Prøver hvor man ikke kan identifisere remisse og prøve entydig skal i prinsippet avvises.

På slutten av manuskriptet er det gitt et tabellarisk sammendrag av metoder for utsæd av fæces-prøver, en tabell som sammenfatter indikasjonsstilling for undersøkelse og kontroll samt to enkle tabeller for identifisering av *Salmonella* og *Shigella*.

#### **2.2.1.1 *Salmonella* og *Shigella***

*Salmonella*-infeksjoner kan gi sykdom som enterokolitt, tyfoid feber, bakteriemi, fokal infeksjon samt en kronisk bærertilstand med utskillelse av bakterier i fæces eller urin. *Salmonella* penetrerer og invaderer den gastro-intestinale mukosa og spres både intra- og submukøst.

*Shigella*-infeksjoner er karakterisert av feber, abdominale kramper og en ofte initial vandig diare som deretter ofte blir puss- og blodtilblandet. *Shigella* forårsaker en lokal infeksjon i tykktarm med inflammasjon, ulcerasjon og i alvorlige tilfeller, nekrose av mukosa.

#### **UTSÆD**

Det stilles store krav til det ideelle medium for bakteriologisk undersøkelse av fæces. Det må tillate de vanligste tarmpatogene bakterier å vokse godt, mens det må undertrykke veksten til den normale tarmflora. I praksis må dette ideal justeres, men mediene må kunne (11):

- undertrykke all vekst av Gram-positive bakterier
- undertrykke *E. coli* i et visst monn
- undertrykke *Proteus* så mye som mulig og inhibere sverming fullstendig
- tillate *Salmonella* og *Shigella* å vokse godt
- produsere distinkte fargeforandringer i mediet (differensiering)
- produsere en lett identifiserbar kolonimorfologi (differensiering)

Til primærisolering anbefales vanligvis et ikke-selektivt Gram-negativt medium og et moderat selektivt medium, et differentialmedium samt anrikningsbuljong (10). Som ikke-

selektivt differensierings-medium anbefales gjerne MacConkey`s agar (15), eosin methylene blå (EMB) (8) agar eller laktose-agar (blåskål). Som moderat selektiv skål anbefales Desoxycholate (12), Salmonella-Shigella (SS) eller andre medier , som differentialmedium anbefales Xylose Lysine Desoxycholate (XLD) (22) eller Lactose Saccharose Urea (LSU) (11).

Problemet med moderat selektive skåler er seleksjon av *Salmonella* og *Shigella* uten å miste *Shigella*. *Shigella* er biokjemisk den minst aktive, og det er ikke mulig å finne et sukker som bare *Shigella* vil fermentere; det er derfor lettere å finne et sukker som de øvrige bakteriene i familien Enterobacteriaceae vil fermentere, men ikke *Shigella*. En del media vil bruke H<sub>2</sub>S som indikator for lettere å påvise funn av *Salmonella*.

Som anrikningsbuljong anbefales en eller to buljonger: oftest **selenitt** (13) og/eller **tetrathionat**. Anrikningsbuljonger skal teoretisk befordre vekst av *Salmonella* og *Shigella* på bekostning av vanlig tarmflora. I praksis vil de nevnte anrikningsbuljonger sterkest fremme vekst av *Salmonella*.

Sterkt selektive medier som brilliantgrønn eller bismuth sulfitt anbefales ikke til rutinebruk, men kan brukes ved utbrudd av *Salmonella typhi*.

Fra anrikningsbuljongene sås ut etter ca 18 timer på et differentialmedium (XLD eller LSU).

## IDENTIFISERING

### **Salmonella**

Laboratoriene må kunne identifisere Salmonella til minst genusnivå og helst kunne skille mellom de alvorligst (S.Typhi/S.Paratyphi) og de vanligst (S.Enteritidis/ S.Typhimurium) forekommende serovar. av Salmonella.

Biokjemi: Tre-rørsmetode (Hajna-oppsett) samt ONPG, LDC og ODC og/eller API 20E eller andre identifikasjonsmetoder.

Agglutinasjon: Polyvalent I (gr A-E4) vil dekke ca 95% av de isolerte Salmonella-stammene (utføres fra Hajna-røret, event bløtagar).

Typisk biokjemisk reaksjon:

|                  |           |
|------------------|-----------|
| Laktose          | -         |
| Glucose          | +         |
| Gass             | + / (-) 1 |
| H <sub>2</sub> S | + / (-) 2 |
| Man              | +         |
| Mot              | +         |
| Indol            | -         |
| Urea             | -         |
| LDC              | + / (-) 2 |
| ODC              | - / (+) 2 |
| ONPG             | -         |

Angivelse i ( ) betyr at slik reaksjon forekommer hos enkelte serotyper.

- 1 Reaksjon hos *S. typhi*
- 2 Reaksjon hos *S. paratyphi A*

**Forenklet skjema for agglutinasjon av isolat som er biokjemisk identifisert som mulig *Salmonella* spp og agglutinerer i omnivalent serum.**

|                       | Gruppe<br>O-ag | H-ag | Gass | H <sub>2</sub> S | LDC | ODC |
|-----------------------|----------------|------|------|------------------|-----|-----|
| <i>S. paratyphi A</i> | A              | a    | +    | -                | -   | +   |
| <i>S. paratyphi B</i> | B              | b    | +    | +                | +   | -   |
| <i>S. typhimurium</i> | B              | i    | +    | +                | +   | -   |
| <i>S. paratyphi C</i> | C (Vi)         | c    | +    | +                | +   | -   |
| <i>S. typhi</i>       | D, Vi          | d    | -    | (+)              | +   | -   |
| <i>S. enteritidis</i> | D              | gm   | +    | +                | +   | -   |

Gruppe 02 (A) 1,2,12

Gruppe 04 (B) 1,4,12

Gruppe 06,7 (C1) **6,7**

Gruppe 09,12 (D1) 1,9,12

## ***Shigella***

Laboratoriene må kunne identifisere *Shigella* til minst genusnivå. Dette bør gjøres med:

Biokjemi: Tre-rørsmetode (Hajna-oppsett) samt ONPG og ODC og/eller API 20E eller andre identifiseringsmetoder.

Agglutinasjon: Alle større laboratorier (regionlaboratorier) bør også kunne skille mellom *Shigella sonnei* S og R, samt *S. flexneri*, *S. boydi* og *S. dysenteriae* med bruk av polyvalente antisera.

Alle laboratoriene bør kunne stille bakteriediagnosen til minst genusnivå, eventuelt med en utvidet biokjemisk test (API 20E eller tilsvarende). Svært ofte vil man da også få en speciesidentifikasjon.

Biokjemisk er *Shigella* spp. relativt lite aktive, men alle er O/F +/+. Følgende forgjæringsmønster er typisk i 3-rør:

|           |      |                                                                                             |
|-----------|------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| Laktose   | -    |                                                                                             |
| Glucose   | +    |                                                                                             |
| Gass      | -    | (noen serovarianter av <i>S. flexneri</i> og <i>S. boydii</i> er svakt gass +)              |
| Mannitol  | -/+  | ( <i>S. dysenteriae</i> -, mens <i>S. flexneri</i> , <i>S. boydi</i> og <i>S. sonnei</i> +) |
| Motilitet | -    |                                                                                             |
| Indol     | -(+) |                                                                                             |
| ODC       | -/+  | ( <i>S. sonnei</i> +)                                                                       |
| ONPG      | -/+  | ( <i>S. sonnei</i> +)                                                                       |

### Skjema for identifikasjon av *Shigella*.

|                      | LDC | ODC | ONPG | Man | Indol | Gass    | Gruppe serum |
|----------------------|-----|-----|------|-----|-------|---------|--------------|
| <i>S. dysenteria</i> | -   | -   | -    | -   | -     | -(+)    | A            |
| <i>S. boydii</i>     | -   | -   | -    | +   | -     | -/((+)) | B            |
| <i>S. flexneri</i>   | -   | -   | -    | +   | -     | -(+)    | C            |
| <i>S. sonnei</i>     | -   | +   | +    | +   | -     | -       | D            |

Agglutiner bare med relevante sera. Doble parenteser angir reaksjoner som kan forekomme, men finnes svært sjelden.

#### 2.2.1.2 *Campylobacter* spp.

To nært beslektede genera, *Campylobacter* og *Arcobacter*, utgjør nå familien *Campylobacteraceae*. Slekten *Campylobacter* omfatter 18 species og subspecies og slekten *Arcobacter* omfatter 4 species (17).

*Campylobacter* er krumme, S-formede eller spiralsnodde Gram-negative, bevegelige staver, 0.2-0.9 mm brede og 0.5-5 mm lange. De fleste *Campylobacter* er mikraerofile og har en respiratorisk metabolisme, men noen stammer vokser aerobt eller anaerobt. *Arcobacter* har en morfologi som ligner den til *Campylobacter*, men vokser ved 15, 25 og 30 °C og viser variabel vekstevne ved 37 og 42 °C. De fleste stammer av *Arcobacter* er følsomme for nalidixinsyre og viser variabel følsomhet for cefalotin (10,17).

*C. jejuni* ssp. *jejuni* og *C. coli* er den hyppigste årsak til bakteriell gastroenteritt i mange industrialiserte land og er etter enterotoksigene *E. coli* den nest hyppigste årsak til bakteriell diare i ikke-industrialiserte land. *C. jejuni* og *C. coli* gir samme sykdomsbilde (inkubasjonstid på 2-5 dager) med feber, mavesmerter og diare (ofte med blod) av noen få dager til en ukes varighet. I USA er *C. jejuni* årsak til 90-95% av campylobacter-infeksjonen og de resterende skyldes *C. coli*. Guillain-Barré syndrom er sterkt assosiert til infeksjon med *Campylobacter* (i Japan særlig til serotype O:19). I tillegg synes *Campylobacter* infeksjon å være assosiert med akutt motorisk axonal neuropati (en Guillain-Barré-lignende sykdom). *C. jejuni* er isolert fra mange forskjellige dyr og nær alle typer ville fugler. Fugl er sannsynligvis hovedreservoaret for *C. jejuni* mens *C. coli* er hyppig isolert fra tarmkanal hos gris (5,10,17).

Man vet lite om patogenese ved *Campylobacter*-infeksjon. Den infeksjøs dose er relativt lav og 1000 bakterier kan gi sykdom. *Campylobacter* koloniserer først mucosa og deretter invaderes det underliggende vev. Det er en rapport om at *C. jejuni* produserer et koleralignende toksin, men dette blir ikke støttet av andre (17).

*C. fetus* ssp. *fetus* er primært assosiert til bakteriemi og ekstraintestinal infeksjon hos pasienter med nedsatt infeksjonsforsvar. *C. fetus* ssp. *fetus* er isolert ved septisk abort, septisk artritt, abscess, meningitt, endokarditt, mykotisk aneurisme, tromboflebitt, peritonitt og salpingitt. Mikroben kan gi gastroenteritt, men vokser dårlig ved 42 °C og er

i tillegg oftest følsom for cefalotin som vanligvis inngår i selektive campylobactermedier. *C. fetus ssp. venerealis* er ikke assosiert til sykdom hos menneske (17).

*C. upsaliensis* er en nylig beskrevet termotolerant art som synes å være en viktig årsak til diare og bakteriemi. *C. upsaliensis* er følsom for mange antibiotika brukt i selektive campylobactermedier og finnes oftest ved bruk av filtrasjonsmetoden (17).

*C. lari* er en termofil art som kan gi gastroenteritt hos mennesket. *C. jejuni ssp. doylei* er en nitrat negativ art som kan gi gastroenteritt. *C. hyointestinalis* er assosiert til proktitt og diare hos menneske. *C. concius* er assosiert til periodental sykdom, men er også isolert fra blod, fotsår og ved luftveisinfeksjon (øvre og nedre). *C. sputorum* biovar sputorum og biovar bubulus er begge isolert fra lunge og abscesser i lyske, axille og scrotum. *C. mucosalis* er isolert fra 2 barn med gastroenteritt. *C. helveticus* er isolert fra huskatt og hund, men er foreløpig ikke knyttet til sykdom hos menneske. *C. rectus* er isolert fra personer med periodental infeksjon, men er også isolert fra pasienter med lungeinfeksjon (17).

*Arcobacter spp.* er aerotolerante, campylobacterlignende bakterier og isoleres hyppig fra katt og gris etter abort eller gastroenteritt. Slekten *Arcobacter* omfatter *A. cryaerophilus*, *A. nitrofigilis*, *A. butzleri* og *A. skirrowii*. *A. butzleri* er isolert fra personer med bakteriemi, endokarditt, peritonitt og diare, mens *A. cryaerophilus* gruppe 1B er isolert fra pasienter med bakteriemi og diare (17).

De fleste *Campylobacter* spp trenger mikroaerofil atmosfære med 5% O<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub> og 85% N<sub>2</sub> for optimal vekst. Noen arter av *Campylobacter* som *C. sputorum*, *C. concius*, *C. mucosalis*, *C. curvus*, *C. rectus* og *C. hyointestinalis* kan trenge hydrogen for primær isolasjon. Disse artene vil derfor ikke alltid isoleres ved bruk av konvensjonelle mikroaerofile teknikker siden mengden hydrogen som genereres fra kommersielle gasspakker er < 2%. Bruk av en gassblanding bestående av 10% CO<sub>2</sub>, 6% H<sub>2</sub> og 84% N<sub>2</sub> i f. eks. Anoxomat vil gi adekvate betingelser for disse artene (17).

Cefoperazone bør erstatte cefalotin i selektive medier for *Campylobacter* (9,14,17). I følge Manual of Clinical Microbiology (17) er charcoal cefoperazone deoxycholat agar (CCDA) uten blod og charcoal-based selective medium (CSM) de beste medier for isolering av *C. jejuni*, *C. coli* og *C. lari*. Antibiotika som cefalotin, colistin og polymyxin B virker hemmende på noen stammer *C. jejuni* og *C. coli* i tillegg til at de hemmer *C. fetus ssp fetus*, *C. jejuni ssp doylei*, *C. upsaliensis* og *A. butzleri*.

Mens *C. jejuni*, *C. coli* og *C. upsaliensis* vokser godt ved 42 °C, vokser *C. fetus* dårlig og *Arcobacter* ikke ved denne temperaturen. De fleste *Campylobacter* vokser godt ved 37 °C og mens Skirrows medium hadde dårlige selektive egenskaper ved denne temperaturen, har de nyere mediene som CCDA og CSM gode selektive egenskaper ved 37 °C. Ideelt burde man derfor kanskje inkubere fæcesprøver både ved 42 °C og 37 °C.

Bruk av anrikningsbuljong som Campy-thio (2), *Campylobacter* anrikningsbuljong (16) eller Preston (4), kan være aktuelt dersom man mistenker at det bare er et lite antall mikrober i prøven, f.eks etter forsinket transport, men er neppe regningssvarende som rutine.

## Prøvetaking/transport.

De enteropatogene artene av *Campylobacter* isoleres best fra fersk fæces. Ved transporttid > 2 t anbefales Cary-Blair transportmedium (1.6 g agar/l). Prøven bør sendes/oppbevares nedkjølt før utsæd. *Campylobacter* er også isolert fra rectumpensel. Buffret glycerol har tidligere vist seg lite egnet som transportmedium for *Campylobacter* (jfr. konsensusmøtet i 1988).

*C. jejuni* og *C. coli* er følsomme for mange forskjellige antibiotika, inklusive makrolider, fluorokinoloner, aminoglykosider, kloramfenikol og tetracykliner. *C. jejuni* er vanligvis følsom for erytromycin (>95%), mens følsomheten hos *C. coli* er mer variabel med opptil 80% av isolatene resistente. Det er kommet flere rapporter om resistenutvikling under terapi med ciprofloxacin, slik at bruk av kinoloner neppe er indisert. Noen isolater av *C. jejuni* og *C. coli* produserer beta-laktamase (17,19,21).

Tidlig behandling av *Campylobacter*-infeksjon med erytromycin eliminerer *Campylobacter* fra avføring og kan også medføre redusert varighet av symptomer (6,18,20). Det er likevel neppe indisert å behandle de fleste tilfellene av *Campylobacter*-infeksjon med antibiotika.

Systemisk infeksi on med *C. fetus spp. fetus* er behandlet parenteralt med erytromycin, ampicillin, aminoglykosider eller kloramfenikol (2).

## Membranfilter-teknikk

Teknikken baserer seg på at de tynne og aktivt bevegelige *Campylobacter* beveger seg lettere gjennom porene i en membran enn de tykkere koliforme mikrobene (10,17). Metoden er den eneste som pålitelig kan påvise de antibiotika-følsomme artene av *Campylobacter* som f. eks. *C. upsaliensis*. Utsæd til et antibiotikafritt medium (eller CCDA) og Cellulose acetat membran filter (0.65 mm pore-størrelse, 47 mm i diameter)

Plasser filteret direkte på agar. Drypp 5-15 dråper fæces på filtret, inkuber ved 37 °C i 1 time. Deretter fjernes filteret og kastes. Inkuber skålene ved 37 °C i optimal atmosfære for isolering av *Campylobacter* (mikroaerofil atmosfære). Metoden kan påvise *Campylobacter* i prøver med  $\geq 10^5$  bakterier/ml.

## Medier

I modifisert CCDA (Modified Charcoal Cefoperazone Deoxycholat Agar) som anbefales i Manual of Clinical Microbiology er blod erstattet med aktivt kull, jernsulfat og pyruvat. Mediet stimulerer vekst av *Campylobacter* og øker toleranse overfor oksygen. Mediet inneholder i tillegg casein hydrolysat for å sikre vekst av miljøisolater av *C. lari*. Utbyttet av termofile *Campylobacter* er best ved 42 °C, men mediet gir også brukbart utbytte ved 35-37 °C (og derved mulighet for isolering av andre *Campylobacter*).

*Campylobacter* blood free selective agar base (Oxoid CM 739)  
Cefoperazone selective supplement (Oxoid SR 125)

Det er også beskrevet en **ny modifikasjon** av dette mediet (**Karmali**) hvor vancomycin (20 mg/l) erstatter desoxycholat for hemming av Gram-positive mikrober. Jernsulfat er erstattet med hemin (32 mg/l). Mediet inneholder i tillegg til cefoperazone (32 mg/l) cykloheximid (100 mg/l). Dette mediet er kanskje best egnet til isolering av andre *Campylobacter*-arter enn *C. jejuni*.

Campylobacter agar base (Karmali) CM 908  
Campylobacter selective supplement (Karmali) SR 139.

Med et motilitetsmedium beskrevet av Goosens et al (JCM 1989) er utsæden enkel og utbyttet godt, men pga. den lave agar-mengden i mediet utvikles det svært mye fuktighet og det er betydelig risiko for søl ved avlesningen (egen erfaring).

**Utsæd** til CCDA (unngå cefalotin, colistin eller polymyxin i mediet). Inkubering i 48 t ved 42 °C og mikroaerofil atmosfære. Ved mistanke om infeksjon med ikke termofile *Campylobacter* bør man inkubere ved 35-37 °C og mikroaerofil atmosfære.

**Identifikasjon** basert på vekstmønster, kolonimorfologi, oksydase-reaksjon og Gram-preparat. For identifikasjon av ikke termofile arter av *Campylobacter* benyttes vedlagte tabell. *C. jejuni* kan skilles fra *C. coli* ved hippurat hydrolyse. AccuProbe (Gen-Probe) kan også benyttes til identifikasjon av termofile *Campylobacter* (skiller ikke mellom de ulike artene).

**Resistensbestemmelse** er vanligvis **ikke nødvendig**. Dersom det er aktuelt å behandle anbefales vanligvis erytromycin. Fluorokinoloner bør unngås pga. faren for resistensutvikling (21). Dersom man ønsker å resistensbestemme *Campylobacter* spp. anbefales E-test eller en fortynningsteknikk. Ved behov for behandling er det aktuelt å teste for følgende midler: erytromycin, tetracyklin og aminglykosid. *Campylobacter* spp. er ofte in vitro følsomme for fluorokinoloner, men det er betydelig tendens til resistensutvikling under behandling og denne gruppen antibiotika skal derfor ikke brukes!

**Kontroll** av funn av *Campylobacter* spp. er isolert sett vanligvis ikke nødvendig, men 10-15% av pasientene er ko-infisert med *Salmonella* eller *Shigella*. Forfatterne anbefaler derfor 2-3 kontrollpørver etter funn av *Campylobacter* spp.

Som **rutine er det bare indisert å undersøke på termofile *Campylobacter* fra fæces**. Ved diare hos immunsupprimerte pasienter uten at annen etiologi er funnet, kan det være aktuelt å undersøke på termotolerante *Campylobacter* og aerotolerante *Arcobacter*. For å påvise andre *Campylobacter* enn termofile arter, må man benytte **membranfiltrering** (0,65 mikrometer porestørrelse).

Husk at **oksygen kan være toksisk** for *Campylobacter* og vær rask med inkubering i mikroaerofil atmosfære.

Det er en fordel å benytte utstyr som gir godt fuktig mikroaerofil atmosfære. Ved bruk av blodholdige medier kan man benytte Anoxomat eller campylobakter-poser uten tilsetning av vann. Ved bruk av blodfrie medier (som CCDA) **MÅ** man bruke utstyr hvor vann benyttes for å skape riktig mikroaerofil atmosfære.

Som selektivt antibiotikum anbefales cefoperazon (32 mg/l) og eventuelt vancomycin 20 mg/l. **Unngå cefalotin, colistin, polymyxin.**

### Identifikasjon av *Campylobacter* spp. (Etter referanse 1, 4 og 12).

|                        | 1<br>Cfsf                                      | 2<br>Cfsv | 3<br>Chyo | 4<br>Clar | 5<br>Ccol                                        | 6<br>Cjsj | 7<br>Cjsd | 8<br>Cup | 9<br>Cspu | 10<br>Ccon | 13<br>Abut | 14<br>Acry |
|------------------------|------------------------------------------------|-----------|-----------|-----------|--------------------------------------------------|-----------|-----------|----------|-----------|------------|------------|------------|
| Sverming               | -                                              | -         | -         | +         | w                                                | +         | +         | w        | -         | -          | ?          | -          |
| Vekst ved 25°C         | -                                              | -         | -         | w         | +                                                | +         | w         | +        | -         | -          | +          | -          |
| Vekst ved 42°C         | -/V                                            | -         | +         | +         | +                                                | +         | w         | +        | +         | +          | V          | -          |
| Katalase               | +                                              | +         | +         | +         | +                                                | +         | d         | w/-      | -         | -          | w          | V          |
| Nalidixin              | R/V                                            | R         | R         | R         | S                                                | S         | S         | S        | V         | R          | S          | S          |
| Cefalotin              | S                                              | S         | S         | R         | R                                                | R         | S         | S        | S         | d          | R          | R          |
| Hippurat               | -                                              | -         | -         | -         | -                                                | +         | +         | -        | -         | -          | -          | -          |
| Indoxyl                | -                                              | -         | -         | -         | +                                                | +         | -         | +        | -         | -          | +          | +          |
| Nitrat red             | +                                              | +         | +         | +         | +                                                | +         | -         | +        | +         | +          | +          | +          |
| H <sub>2</sub> S (TSI) | -                                              | -         | +         | +         | V                                                | V         | -         | -        | +         | +          | -          | -          |
| Vekst :                |                                                |           |           |           |                                                  |           |           |          |           |            |            |            |
| TTZ (0.04% i agar)     | -                                              | -         | -         | V         | +                                                | +         | V         | -        | -         | -          | ?          | V          |
| Glycin 1%              | +                                              | -         | +         | +         | +                                                | +         | +         | V        | +         | -          | +          | V          |
| Salt 1.5% i agar       | V                                              | V         | V         | +         | -                                                | -         | -         | -        | +         | +          | V          | V          |
| Anaerob vekst          | +                                              | +         | +         | +         | -                                                | -         | -         | +        | +         | +          | ?          | +          |
| Urease                 | -                                              | -         | -         | -         | -                                                | -         | -         | -        | -         | -          | -          | -          |
| -----                  |                                                |           |           |           |                                                  |           |           |          |           |            |            |            |
| 1 Cfsf                 | <i>Campylobacter fetus</i> ssp. <i>fetus</i>   |           |           | 2 Cfsv    | <i>Campylobacter fetus</i> ssp. <i>veneralis</i> |           |           |          |           |            |            |            |
| 3 Chyo                 | <i>Campylobacter hyointestinalis</i>           |           |           | 4 Clar    | <i>Campylobacter lari</i>                        |           |           |          |           |            |            |            |
| 5 Ccol                 | <i>Campylobacter coli</i>                      |           |           | 6 Cjsj    | <i>Campylobacter jejuni</i> ssp. <i>jejuni</i>   |           |           |          |           |            |            |            |
| 7 Cjsd                 | <i>Campylobacter jejuni</i> ssp. <i>doylei</i> |           |           | 8 Cupp    | <i>Campylobacter upsaliensis</i>                 |           |           |          |           |            |            |            |
| 9 Cspu                 | <i>Campylobacter sputorum</i>                  |           |           | 10 Ccon   | <i>Campylobacter concius</i>                     |           |           |          |           |            |            |            |
| 13 Abut                | <i>Arcobacter butzleri</i>                     |           |           | 14 Acry   | <i>Acrobacter cryaerophilus</i>                  |           |           |          |           |            |            |            |

S Sensitiv, R Resistent, 30 mg lapp, enhver sone

+ > 90% positiv reaksjon, - > 90% negativ reaksjon, V Variabel reaksjon, W svak reaksjon,

? reaksjon ukjent

TTZ trifenylnitrazolium klorid, Indoxyl acetat hydrolyse (lapp-test)

### 2.2.1.3 *Yersinia enterocolitica*.

Slekten *Yersinia* består av både patogene og saprofyttære arter og finnes vidt utbredt i naturen. *Y. pestis* og *Y. pseudotuberculosis* kan gi sykdom både hos mennesker og dyr mens *Y. enterocolitica* ofte gir enterokolitt hos menneske (5,9,12).

*Yersinia*-infeksjon er en zoonose. Det naturlige reservoar er ulike dyr, for den i Norge vanligste humanpatogene arten, O3, er reservoaret gris. Smitte skjer ved inntak av kontaminert mat og vann. *Y. enterocolitica* kan gi opphav til flere vel definerte sykdomsbilder som haemorrhagisk enterokolitt, terminal ileitt, mesenteriell lymfadenitt (pseudoappendicitt), septicemi og fokale ekstraintestinale infeksjoner. Enterokolitt forårsaket av *Y. enterocolitica* karakteriseres ved diare, feber og mavesmerter. Det finnes mer enn 50 ulike serotyper av *Y. enterocolitica*, men bare noen få gir enterokolitt. I Norge forekommer nesten utelukkende serotype O3 med noen få tilfeller av O9. I andre land er også O8 og O5,27 vanlige.

*Yersinia* invaderer mucosa i tarm og prolifererer både i mucosa og submucosa. Etter penetrasjon gjennom tarmslimhinnen vandrer *Y. enterocolitica* til lymfeknuter (Peyer'ske plaque) i tynntarm (særlig terminale ileum). Virulensfaktorene er ufullstendig kjent men omfatter kromosomale invasivitetsgener, plasmidmediert adhepanse-protein og et varme-stabilt enterotoksin.

*Y. enterocolitica* vokser langsommere enn andre enterobakterier ved 37 °C.

*Y. enterocolitica* vokser relativt sett bedre enn andre enterobakterier ved lavere temperaturer, og dette utnyttes ved primær isolering.

Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin (CIN) er et selektivt medium for isolering av *Y. enterocolitica* (og andre *Yersinia*-arter). Stammer av *Y. enterocolitica* er vanligvis laktose-negative, men laktose-positive stammer finnes. Etter 18-24 timer på CIN-agar er koloniene blanke med en skarpt rød kokarde i sentrum og en gjennomskinnelig rand. Vanligvis er det ikke presipitater i agaren.

*Yersinia enterocolitica* vokser godt i Selenitt-buljong ved 22-28 °C. Det er derfor vanlig å benytte denne som anrikning før utsæd til CIN-agar.

**Utsæd** direkte til CIN-agar og til Selenitt-buljong. CIN-agar inkuberes ved 28 °C i 18-24 t. Selenitt-buljong inkubres ved 22-28 °C i 18-24 t. Utsæd til CIN-agar og inkubering i 18-24 t ved 28 °C.

**Identifikasjon** med skjer med 3-rørs-forgjæring og motilitet ved 20 °C. Agglutinerer med O3 antiserer.

**Resistensbestemmelse** er vanligvis **ikke nødvendig** og dersom slik utføres bør det kommenteres at **antibiotika-behandling vanligvis ikke anbefales**.

*Y. enterocolitica* er lite følsom for ampicillin, vanligvis følsom for trimetoprim-sulfa, tetracykliner, fluorokinoloner og aminoglykosider.

**Kontroll** av funn av *Yersinia enterocolitica* er vanligvis ikke nødvendig.

#### Identifikasjon:

I 3-rørs forgjæring har *Y. enterocolitica* følgende karakteristiske reaksjoner:

|                  |       |
|------------------|-------|
| Glukose          | +     |
| Laktose          | -     |
| Gass             | -     |
| H <sub>2</sub> S | -     |
| Mannitol         | +     |
| Motilitet 37 °C  | -     |
| Motilitet 20 °C  | +     |
| Urease           | +(*)  |
| Indol            | -(**) |
| ONPG             | +     |
| LDC              | -     |
| ODC              | +     |

\* Raskere positiv ved 25-28 °C

\*\* Biotype 1 og 2 er indol-positive (sjeldne i Norge).

## 2.2.2 Sammendrag: Forslag til undersøkelse og utsæd av fæcesprøver.

*Salmonella*, *Shigella* og *Campylobacter* har stort sett samme smittevei, mens *Yersinia* har et annet reservoir (smitte ofte via (kaldt) vann). Hos 5-15% av pasienter med funn av enten *Salmonella*, *Shigella* eller *Campylobacter* (termofile arter) i en prøve, vil man ved senere kontroll finne en annen slekt. Ved kontroll etter funn av *Salmonella* eller *Shigella* (og *Campylobacter* om kontroll er indisert) bør man derfor undersøke på alle disse tre agens. Det anbefales ikke kontroll etter funn av *Yersinia*, men ønskes det likevel slik kontroll vil det være tilstrekkelig å bare lete etter *Yersinia*. Idikasjonsstilling for undersøkelse på andre agens er angitt i tabellen på side 14.

Ved utsæd kan man velge å benytte mange forskjellige medier (hvert medium kan i enkelte situasjoner være bedre enn et annet) eller basere seg på en rutine med et minimalt antall forskjellige medier (som bedømt ut fra funn, positiv-rate og ulike kontroller synes å gi gode resultater).

For påvisning av *Salmonella* og *Shigella* anbefales bruk av et av de to nedenfor nevnte "systemene". Delte skåler anbefales **ikke**.

|                   | Stort oppsett                                                                | Minimalt oppsett                                                |
|-------------------|------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| Primær utsæd til  | Laktose (blåskål)<br>XLD el. LSU<br>Selenitt-buljong<br>Tetrathionat-buljong | LSU (el. XLD)<br><br>Selenitt-buljong<br>(Tetrathionat-buljong) |
| Utsæd fra buljong | LSU el XLD                                                                   | LSU (el. XLD)                                                   |

For påvisning av *Campylobacter* (termofilearter) mikraerofil atmosfære og 42 °C (benytt alltid utstyr som gir **fuktig atmosfære**, dvs. gass-genererende pakker som tilsettes vann).

|                  |                           |              |
|------------------|---------------------------|--------------|
| Primær utsæd til | CCDA<br>Blodholdig medium | CCDA (alene) |
|------------------|---------------------------|--------------|

For påvisning av *Yersinia* anbefales primær er utsæd til CIN-skål og Selenitt-buljong (inkuber ved 22-25 °C i 16-18 t) og utsæd til CIN-skål (inkuber ved 29°C). CIN-skål kan være vanskelig å avlese etter 2 d inkubasjon.

|                  |                                                              |                            |
|------------------|--------------------------------------------------------------|----------------------------|
| Primær utsæd til | CIN (29°C)<br>Selenitt (22°C )@CIN(29°C)eller bare CIN(29°C) | Selenitt (22°C )@CIN(29°C) |
|------------------|--------------------------------------------------------------|----------------------------|

## 2.2.3 Oversikt over utsæd av fæcesprøver.

| <b>Agens</b>                                                   | <b>Indikasjon</b>                                                                                                       | <b>Kontroll/Kommentar</b>                                                                                                                                                                                       |
|----------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Salmonella/Shigella</i>                                     | Vanlig bakt dyrkning                                                                                                    | Kontroll anbefales. Uundersøk på <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> og <i>Campylobacter</i> .                                                                                                                  |
| <i>Campylobacter jejuni</i> , <i>C. coli</i> og <i>C. lari</i> | Vanlig bakt dyrkning                                                                                                    | Kontroll for påvisning av eventuell ko-infeksjon med <i>Salmonella</i> eller <i>Shigella</i> . Us på <i>Campylobacter</i> , <i>Salmonella</i> og <i>Shigella</i>                                                |
| Andre <i>Campylobacter</i> eller <i>Arcobacter</i>             | Kronisk diare hos immun-supprimerte pasienter uten annen kjent etiologi (membranfilter-teknikk).                        | Usikker betydning av eventuelle funn. Kontroll sannsynligvis ikke nødvendig.                                                                                                                                    |
| <i>Yersinia</i>                                                | Vanlig bakt dyrkning                                                                                                    | Kontroll vanligvis ikke indisert. Dersom likevel ønske om kontroll etter pos funn: us bare på <i>Yersinia</i> Sorbitol-agar. Agglutinasjon med O-157. Send referanselab. Kontroll sannsynligvis ikke nødvendig. |
| EHEC <sup>1</sup>                                              | Blodig diare,. Hemolytisk uremisk syndrom (HUS),                                                                        | Inaktiv <i>Shigella</i> -lik <i>E. coli</i> : ubevegelig, gass- og LDC-negativ. Rapporteres bare ved diare.                                                                                                     |
| EIEC                                                           | Trombocytopenisk purpura (TTP)<br>Bifunn ved dyrkning mhp <i>Shigella</i>                                               | Verifikasjon ved PCR. Kontroll ikke nødvendig. Sendes eventuelt til referanselab. Verifikasjon ved referanselab.                                                                                                |
| ETEC<br>EPEC <sup>1</sup>                                      | Dyrkning sjelden indisert. Sjelden indisert. Utbrudd i institusjon med barn < 2 år eller kronisk diare hos barn < 2 år. | Kontroll vanligvis ikke nødvendig (ofte positiv i 1-2 uker etter at diare har avtatt). Kan være tilfeldig funn (normalflora).                                                                                   |
| <i>Clostridium difficile</i>                                   | Antibiotika-assosiert diare, pseudomembranøs kolitt, utbrudd av diare i institusjon (eldre).                            | Kontroll neppe nødvendig (finnes sjelden etter 5 d sykdom).                                                                                                                                                     |
| <i>Vibrio cholerae</i>                                         | Påvisning av toksin vanligvis nok. Risvann-diare, kolera-epidemi.                                                       | Kontroll neppe nødvendig.                                                                                                                                                                                       |
| <i>Vibrio parahaemolyticus</i>                                 | Blodig diare (særlig etter inntak av sjømat).                                                                           | Kontroll neppe nødvendig.                                                                                                                                                                                       |
| <i>Aeromonas hydrophila</i>                                    | Assosiert med disre etter inntak av sjø-mat.                                                                            | Kontroll ikke nødvendig.                                                                                                                                                                                        |
| <i>Plesiomonas shigelloides</i>                                | Assosiert med disre etter inntak av sjø-mat.                                                                            | Kontroll ikke nødvendig.                                                                                                                                                                                        |

## 2.2.4 Referanser

1. Barrow GI and Feltham RKA. Cowan and Steele's Manual for the Identification of Medical Bacteria. Cambridge University press. 3rd ed. 1993.
2. Blaser MJ, Berkowitz ID, LaForce FM, Craven J, Reller LB and Wang WL. *Campylobacter* enteritis: clinical and epidemiological features. Ann Intern Med 1979; 91, 179-85.
3. Blaser MJ. *Campylobacter* spp, p. 1649-58. In GL Mandell, RG Douglas, and JE Bennett (ed.), Principles and Practice of Infectious Disease. Churchill Livingstone, New York 1990.
4. Bolton FJ and Robertson L. A selective medium for isolating *Campylobacter jejuni/coli*. J Clin pathol 1982, 35, 462-7.

<sup>1</sup> Se fotnote på s. 4 og Del 3 – Endringer

5. Gilligan PH, Janda JM, Karmali MA, and Miller JM. Cumitech 12A. Laboratory diagnosis of bacterial diarrhea. Coordinating ed. FS Nolte. American Society for Microbiology, Washington DC 1992.
6. Goodman LJ, Trenholme GM, Kaplan RL, Segreti J, Hines D, Petrak R, Nelson JA, Mayer KW, Landau W, and Parkhurst GW. Empiric antimicrobial therapy of domestically acquired acute diarrhea in urban adults. Arch Intern Med 1990; 150, 541-6.
7. Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST (ed). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Ninth edition. Williams and Wilkins 1994.
8. Holt-Harris JE and Teague O. A new culture medium for the isolation of *Bacillus typhosus* from stools. J Infect Dis 1916; 18: 596 - 600
9. Hutchinson DN and Bolton FJ. Improved blood free selective medium for the isolation of *Campylobacter jejuni* from faecal specimens. J Clin Pathol 1984, 37:956-7.
10. Isenberg. Clinical Microbiology Procedures Handbook. ASM Press, Washington 1994 ASM Handbook of Clinical Microbiology pp 1.10.1 -1.10.25
11. Juhlin I and Ericson C. A new medium for the bacteriologic examination of stools (LSU-agar). Acta Path Microb Scand 1961; 52: 185 -201
12. Leifson E. New culture media based on sodium desoxycholate for the isolation of intestinal pathogens and for the enumeration of colon bacilli in milk and water. J Path & Bact 1935; 40: 581 - 599
13. Leifson E. New selenite enrichment media for the isolation of typhoid and paratyphoid (*Salmonella*) bacilli. Am J Hyg 1936; 24: 423 - 432
14. Karmali MA, Simor AE, Roscoe M, Flemmin PC, Smith SS and Lane J. Evaluation of a blood-free, charcoal-based, selective medium for the isolation of *Campylobacter* organisms from feces. J Clin Microbiol 1986, 23: 456-9.
15. MacConkey A. Lactose-fermenting bacteria in faeces. J Hyg 1905; 5: 333-379
16. Martin WT, Patton CM, Morris GK, Potter PE, and Puhf ND. Selective enrichment broth for isolation of *Campylobacter jejuni*. J Clin Microbiol 1983, 17: 853-5.
17. Murray PR (ed). Manual of Clinical Microbiology. 6th edition, ASM Press, Washington 1995.
18. Petrucelli BP, Murphy GS, Sanchez JL, Walz S, DeFraitas R, Gelnett J, Haberberger RL, Echeverria P, and Taylor DN. Treatment of traveler's diarrhea with ciprofloxacin and loperamide. J Infect Dis 1992; 165, 557-60.
19. Rautelin H, Renkonen OV, and Kosunen TU. Emergence of fluoroquinolone resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in subjects from Finland. Antimicrobial Agents Chemother 1991; 35: 2065-9.
20. Salazar-Lindo E, Sack RB, Chea-Woo E, Kay BA, Piscocoy I, and Leon-Barua RY. Early treatment with erythromycin of *Campylobacter jejuni* associated dysentery in children. J Pediatr 1986; 109: 3555-60.
21. Sjogren E, Kajser B, and Werner M. Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated in Sweden: a 10-year follow-up report. Antimicrobial Agents Chemother 1992; 36: 2847-9.
22. Taylor WI. Isolation of *Shigellae*. I Xylose Lysine Agars; New media for the isolation of enteric pathogens. Am J Clin Pathol 1965; 44: 471 - 475

## 2.3 *E. coli*.

Jørgen Lassen, Avdeling for bakteriologi, Statens institutt for folkehelse

Tarmpatogene *E. coli* finnes innen følgende klasser:

- Enteropatogene *E. coli* (EPEC)
- Enterotoksogene *E. coli* (ETEC)
- Enteroinvasive *E. coli* (EIEC)
- Enterohemorragisk *E. coli* (EHEC)
- Enteroadherent *E. coli* (EAEC) (vil ikke bli nærmere omtalt her)

De ulike gruppene er alle knyttet til særlige serotyper. De har ulike patogenetiske mekanismer og ofte en ulik klinikk, slik dette fremgår av tabell 1. Det finnes ingen kultur- eller morfologiske eller biokjemiske kriterier som skiller patogene fra non-patogene *E. coli*-stammer. Diagnostikken av tarmpatogene *E. coli* er dermed vanskelig og det er ikke grunnlag for å gjennomføre denne rutinemessig. Hver enkelt gruppe har sine egne indikasjoner, dels kliniske, dels epidemiologiske, dels biokjemiske. Forslag til indikasjoner fremgår av tabell 2.

Diagnostikken bygger dels på serologisk identifikasjon, dels på identifikasjonen av virulensfaktorer.

Tabell 1. Dominerende symptomer og patogenese ved tarmpatogene *E. coli*-infeksjoner.

| Mikrobe | Klinikk                                                                                                       | Patogenese                                                   |
|---------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| EPEC    | Feber, kvalme, diarè med mucus, medtatt allmenntilstand                                                       | Destruksjon av mikrovilliene                                 |
| ETEC    | Vandige, ofte voldsomme diarèer. Ikke feber, ikke abdominalsmerter                                            | Lt og/eller St-toksin. Effekten er lokalisert til tynntarmen |
| EIEC    | Dysenteri. Blodige, mukøse diarèer, feber, abd.smerter, evt. tenesmer                                         | Invasivitet, lokalisert til colon                            |
| EHEC    | Blodige, vandige diarèer, noe feber, abdominalsmerter. Evt utvikling av HUS og/eller trombocytopenisk purpura | VERO-toksin                                                  |

**1. EPEC**<sup>1</sup> refererer seg til spesifikke serotyper av *E. coli* som har vært assosiert med utbrudd av *infantil* diarè, ikke minst ved institusjoner/sykehus. Etter ca. 1960 er utbrudd med disse mikroben blitt betydelig sjeldnere i alle I-land (av ukjente årsaker), mens de i mange U-land fortsatt hører med til de hyppigst forekommende bakterielle tarmpatogene agens. Her kan de også være årsak til sykdom i den voksne befolkningen. Sporadiske tilfeller av infantil diarè forårsaket av denne mikroben forekommer fortsatt også i I-land, men den generelle betydning av mikroben her synes å være liten. EPEC skal forøvrig være en de meget få årsaker til bakteriell *kronisk* gastroenteritt hos spe- og småbarn.

EPEC viser histologisk en spesifikk binding til de intestinale enterocyttene (kalt "attaching and effacing adherence" - AE) som fører til destruksjon av mikrovilliene og som har vært postulert som det patogenetiske grunnlaget for diarèsykdommen. Til

<sup>1</sup> Se Del 4 – Vedlegg: Begrunnelse for endring i diagnostikk av tarmpatogene *E. coli*

HEp-2-celler viser de *in vitro* to former for adhesivering; en diffus og en lokalisert. Den lokaliserte formen er mediert av et 50-70 Mda plasmid (EAF-plasmidet). Hvorvidt denne lokaliserte adhesiveringen *in vitro* er assosiert med AE-adhesivering *in vivo* er fortsatt noe usikkert og følgelig også den eventuelle diagnostiske betydningen av å påvise dette plasmidet. Det foreligger DNA-probe for påvisning av EPEC med lokalisert adhesivering.

Enkelte EPEC-stammer produserer VERO-toksin, men da vanligvis i små mengder. Det er usikkert hvilken rolle dette spiller i patogenesen. Det er for øvrig ikke påvist spesifikke virulensfaktorer for EPEC, og det finnes følgelig ingen sikre tilgjengelige metoder, hverken feno- eller genotypiske, for på generelt grunnlag å skille patogene fra non-patogene varianter.

#### *Diagnostikk:*

Minst 5 - 10 kolonier undersøkes.

Koloniene undersøkes i polyvalente EPEC OK-antisera. Hvis positiv testes de i monovalente OK-sera og/eller titreres i spesifikke O-antisera *etter* varmebehandling.

På referansenivå er blant annet følgende diagnostiske metoder forsøkt:

- DNA-prober mhp enteroadhesive gener
- påvisning av EPEC-spesifikke antigener (herunder et felles YMP)
- *in vitro*-adhesjon ved bruk av HEp-2-celler
- fluoriserende actin-farving (FAS)
- ELISA

Den i praksis tilgjengelige diagnostikken pr i dag er imidlertid *serotyping* hvor man inkluderer O- og H-antigenene. Fordi man ikke med sikkerhet vil vite hvorvidt *alle* kloner innen de aktuelle serotypene er patogene eller ikke, vil serotype-diagnostikken til syvende og sist bare kunne representere en *eksklusionsdiagnose*.

Diagnostikken som pr i dag utføres ved Referanselaboratoriet for entero-patogene mikrober er utelukkende en *serogruppering* som innebærer en titrering av mikroben i aktuelle OK- og O-antisera og med homolog stamme som kontroll. Gruppediagnosen stilles dersom mikroben har et titer mot det aktuelle O-antiserum som ikke er lavere enn maksimalt et trinn i forhold til homolog stamme.

Gruppediagnostikken anses for å være en god indikasjon på at det foreligger en reell EPEC, men hvor mye vi taper i spesifisitet i forhold til typing er ukjent.

*Indikasjon:* Barn < 2 år på institusjon som har eller utvikler diarè.

**2. ETEC** er en av de aller hyppigste årsaker til diarèsykdommer i U-land, ikke minst hos barn, og er også en hyppig (den hyppigste?) årsak til turistdiarè. Skal være meget sjelden i I-land. Opptrer vanligvis som en mat- og vannbåren infeksjon. Infeksjonen er akutt, men vanligvis kortvarig og lite dramatisk. Afebril. Ingen abdominalsmerter. Ingen puss i avføringen. En infeksjon påført i utlandet, vil vanligvis være overstått før hjemkomst.

Patogenesen er knyttet til elektrolyttforstyrrelser som er mediert av et eller to plasmidbetingete toksiner, henholdsvis det koleralignende, varmelabile Lt-toksinet og det varmestabile St-toksinet. Lt-toksinet fører til en aktivisering av intracellulær c-adenylmonophosphat (c-AMP), St-toksinet til en tilsvarende aktivisering av c-guanylmonophosphat (c-GMP).

*Diagnostikk:* Undersøkelsen er *meget sjelden* indisert!

- Minst 10 E.coli-kulturer plukkes og undersøkes, eventuelt sendes referanselaboratorium.
- Toksinpåvisning.
  - Lt-toksinet kan påvises ved kommersielt tilgjengelig ELISA-metode.
  - St-toksinet påvises i "infant mouse-test" som referansemetode. Det finnes kommersielt tilgjengelig ELISA-metode for påvisning av St (Oxoid).
  - Prober kan anvendes
- (Serotyping).

Ved Referanselaboratoriet for enteropatogene mikrober er pr i dag i praksis bare ELISA-metode for påvisning av Lt-toksinet tilgjengelig. St-toksinet påvises således i praksis ikke.

*Indikasjoner:* Foreligger svært sjelden. Eventuelt hos hjemvendte turister med voldsomme, vandige diarèer. Forøvrig er undersøkelsen aktuell ved mistanke om kolera.

**3. EIEC** er biokjemisk sett shigellalignede E.coli-stammer som også har samme patogenese og klinikk som Shigella-sp. Forekommer sjelden i I-land, skal være hyppig i U-land, kanskje særlig i Mellom- og Sør-Amerika. Mennesket er reservoaret og smitten skjer direkte fra person til person. Patogenesen er knyttet til invasivitet og proliferering i tykktarmens epithelceller. Klinikken starter ofte som ved en ETEC-infeksjon (vandige diarèer), men går fort over i et dysenterilignende bilde.

*Diagnostikk:*

- Påvisning av invasivitet ved:
  - . Serenyttest
  - . PCR
- Serotyping (NB! kan kryssreagere med Shigella sp.)
- Cellekulturer (HeLa eller HEP2-celler)
- ELISA

Ved Referanselaboratoriet for enteropatogene mikrober benyttes i dag PCR for påvisning av "invasivitetsgen"

*Indikasjoner:* Ved dysenterisymptomer. EIEC vil sannsynligvis alltid bli forgjært på grunn av mistanke om Shigella sp. En kultur som her viser seg ikke å være Shigella, men har en shigella-lignende biokjemi (f.eks. ved at den har minst to av følgende tre karakteristika: anaerogen, non-motil og LDC-negativ), bør undersøkes.

**4. EHEC<sup>1</sup>** ble først erkjent i 1982 i forbindelse med et utbrudd av hemoragisk colitt i USA og Canada. Også EHEC er knyttet til særskilte serotyper, først og fremst O157:H7 eller O157:H-. Disse serotypene utgjør alene godt over 90% av alle tilfellene. I tillegg kan av og til andre serotyper være involvert, herunder O:26:H11 og O:111 (som tidligere ble antatt å tilhøre EPEC-gruppen).

---

<sup>1</sup> Se fotnote på s. 4, Del 3 – Endringer, og Del 4 – Vedlegg: Begrunnelse for endring i diagnostikk av tarmpatogene *E. coli*

Patogenesen er knyttet til VERO-toksin (VT) som det finnes to typer av:

VT1: som sannsynligvis er identisk med Shiga-toksin og som det foreligger kryssnøytralisering mot

VT2: som ikke er identisk med Shiga-toksinet og som det ikke foreligger noen kryssnøytralisering mot.

Toksinet har både cyto-, "nevro"- og enterotoksiske egenskaper som fører til vasculær-endotheliale skader med påfølgende blødning.

Det viktigste reservoaret er *storfe*, de fleste utbruddene har vært matbårne via ikke tilstrekkelig varmebehandlet storfekjøtt (f.eks. hamburgere).

#### *Klinikk:*

1. Det vanligste er en eventuell massiv, hemoragisk colitt med sterke abdominal-smerter og sterkt påvirket allmenntilstand, men pasienten er som oftest afebril og det kan ikke påvises puss i avføringen. Rtg. colon vil av og til gi fylningsdefekter ("pseudotumorer").

2. Hemolytisk-uremisk syndrom (HUS), eventuelt kombinert med trombocytopeni og mikroangiopatisk hemolytisk anemi, som typisk inntreffer et par dager etter en blodig diaré. Barn < 2 år har høyeste incidens og i denne aldersgruppen er infeksjonen mange steder hyppigste årsak til nyresvikt.

#### *Diagnostikk:*

Undersøkelsen bør finne sted i løpet av *de første 5 dager etter sykdomsdebut*. I praksis nøyer man seg stort sett med å identifisere EHEC i O:157-gruppen som er sorbitolnegative.

- Primærdiagnostikken inkluderer bruk av sorbitolskål som et differentialmedium. Farveløse kolonier undersøkes videre.
- *Minst 5- 10* av mistenkte kolonier undersøkes mot O:157-antiserum eller sendes referanselaboratorium.
- Positive kolonier identifiseres biokjemisk for å skille dem fra *E. hermannii*.

Hvis klinikken gjør EHEC-diagnosen sannsynlig, er det ikke nødvendig å gå lenger i diagnostikken. Eventuelt kan positive E.coli-kulturer sendes inn til VERO-toksin påvisning, men fordi langt de fleste er positive, er dette vanligvis ikke nødvendig. Ved negativitet mhp. O:157, men fortsatt sterk klinisk mistanke om EHEC-infeksjon, sendes et strøk (med minst 10-20 kolonier) av E.coli-kolonier til referanselaboratorium til undersøkelse mhp VERO-toksin. Eventuelt sendes fæces til påvisning av fritt VERO-toksin.

VERO-toksinet påvises i cellekultur, alternativt anvendes en PCR-påvisning.

#### *Indikasjoner:*

Alle hemoragiske colitter.  
Mistanke om HUS/TTP.

**Tabell 2. Forslag til indikasjoner for undersøkelse med henblikk på tarmpatogene E.coli**

| Agens             | Indikasjoner                                                                   | Under forutsetning av                                                                                                |                       |
|-------------------|--------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
|                   |                                                                                | Bakteriolog                                                                                                          | Klinikk               |
| EPEC <sup>1</sup> | < 2år i institusjon<br>Diareutbrudd blant småbarn<br>Kronisk diare hos småbarn | E.coli i rik og (nesten) renkultur                                                                                   |                       |
| ETEC              | Lite aktuelt<br>Evt. turister fra "tropiske" U-land .<br>Adoptivbarn med diare |                                                                                                                      | Voldsom, vandig diare |
| EIEC              | Turister fra "tropiske" U-land                                                 | Shigellalignende "inaktive" E.coli.                                                                                  | Dysenteri             |
| EHEC <sup>1</sup> | Hemoragisk colitt<br>HUS/TTP                                                   | Sorbitolnegative E.coli<br>Ved sterk klinisk mistanke og bare forekomst av sorbitolpositive kolonier, bør også disse | undersøkes            |

**Tabell 3. Forslag til diagnostikk av tarmpatogene E.coli.**

| Agens             | Lokalt laboratorium                                                                                                                                                                                                             | Referanselaboratorium                                                                             |
|-------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|
| EPEC              | Aggl. > 10 kolonier i polyval. OK-sera.<br>Ved positivitet:<br>a. sende stammen til Ref.lab.<br>b. teste i monoval. OK-sera (pres. test)<br>c. koke, teste, titrere i spes. O-sera (konfirmativ test)                           | Serogruppering i presumtiv og konfirmativ test.<br>H-typing ??                                    |
| ETEC              | Vanligvis ingenting<br>Ved særskilt indikasjon:<br>sende et "strøk" med kolonier til Ref.lab.                                                                                                                                   | Toksinpåvisning:<br>Lt ved ELISA<br>(ST ved "infant mouse test" eller ST -ELISA)                  |
| EIEC              | Ved dysenteri og isolasjon av en inaktiv E.coli:<br>sende stammen til Ref.lab.                                                                                                                                                  | PCR-undersøkelse mhp invasivitet (Sereny-test)                                                    |
| EHEC <sup>1</sup> | Ved hemoragisk colitt:<br>teste >10 kolonier mhp. sorbitol, evt. teste i O157:H7-antiserum<br>Innsending av sorbitolneg. kolonier.<br>Ved sterk mistanke: innsending av et "strøk" med øvrige E.coli-kolonier, evt. av avføring | (Serotyping)<br>VERO-toksin-påvisning<br>PCR-undersøkelse<br>fra: - kolonier.<br>- fritt i fæces. |

<sup>1</sup> Se Del 3 – endringer og del 4 – Vedlegg: Begrunnelse for endring i diagnostikk av tarmpatogene *E. coli*

## 2.4 *Clostridium difficile* assosiert sykdom: laboratoriediagnostikk

Peter Gaustad, Mikrobiologisk institutt, Rikshospitalet

### Innledning

*Cl. difficile* er en anaerob, sporedannende Gram positiv stavbakterie. *Cl. difficile* assosiert kolitt og diaré skyldes potente toksiner fra bakterien. Toksin A er et enterotoksin som gir blødninger og væsketap fra tarmen. Det virker også cytotoxisk. Toksin B er et cytotoxin. Begge toksinene spiller en viktig rolle i sykdomsutviklingen. Omkring 25% av *Cl. difficile* isolater danner ikke toksiner og har heller ikke gener for toksinproduksjon. Hos en toksigen stamme dannes toksin A og B i samme mengde, men de enkelte stammer kan variere fra høy produsenter til svake produsenter av toksinene. Høy toksigene stammer kan danne 100.000 ganger mer toksin enn lav toksigene.

Ca 5% av friske voksne har toksigen *Cl. difficile* i faeces, vanligvis i lavt antall. Små barn er hyppigere bærere, men de utvikler sjeldnere *Cl. difficile* assosiert sykdom. Spektrumet av kliniske manifestasjoner vil omfatte lett diaré som forsvinner ved seponering av antibiotika til fulminant pseudomembranøs kolitt med fare for megakolon og perforasjon.

*Cl. difficile* er årsak til opptil 1/3 av alle tilfelle med antibiotika assosiert diaré, 30-70% av alle antibiotika assosierte kolitter og over 90% av alle pseudomembranøse kolitter. Alle antibiotika kan utløse *Cl. difficile* assosiert sykdom. Det samme gjelder trolig visse cytostatika. Sykdommen kan oppstå 6-8 uker etter antibiotikabehandling. Risiko for å utvikle *Cl. difficile* assosiert sykdom øker med alder over 65 år, alvorlig grunnsykdom, intensiv behandling, mage-tarmoperasjon, endoskopi og ved bruk av laksantia/klyster. *Cl. difficile* kan forekomme i sporeform i omgivelsene i et sykehus for lang tid og vil ved smitte proliferere i kolon når den vanlige kolonfloraen blir kompromitert ved antibiotikabruk.

Diagnosen av *Cl. difficile* assosiert sykdom bør baseres på kliniske såvel som laboratoriefunn og inkluderer:

- 1) påvisning av fritt toksin eller toksigene *Cl. difficile* i avføring
- 2) diaré dvs mer enn 6 uformede avføringer i løpet av 36 timer,
- 3) pseudomembraner og/eller kolitt tegn ved endoskopi
- 4) ingen annen kjent årsak til diaré,
- 5) antibiotika behandling de siste 6-8 ukene, eller cytostatika behandling.

Ved påvisning av *Cl. difficile* toksiner i avføring hos en pasient vil mange klinikere kreve at det finnes forandringer forenlig med *Cl. difficile* assosiert sykdom ved endoskopisk undersøkelse før behandling startes. Dette er en viktig holdning for å hindre overforbruk av antibiotika, spesielt vankomycin.

Smitten vil i de fleste tilfelle være fra omgivelsene (andre pasienter, personale, utstyr etc). I sykehus er det også påvist smitte fra asymptomatiske pasienter. Endogen smitte er sjelden siden bærertilstand av *Cl. difficile* er sjelden.

Indikasjonene for laboratoriediagnostikk bør omfatte diagnose av aktuell sykdom og i tillegg ved behov, hjelp til smitteutredning/epidemiologiske undersøkelser.

#### **2.4.1 Retningslinjer for undersøkelse på *Cl. difficile* og/eller dens toksiner.**

##### 1) Indikasjoner for undersøkelse ved mistanke om *Cl. difficile* assosiert sykdom.

Indikasjonene for at laboratoriet skal undersøke en avføringsprøve bør være:

1) pasientanamnese på antibakteriell behandling (evt. cytostatika) de siste 6-8 ukene,

2) diaré hos pasienten. Det har sjelden hensikt å undersøke formet avføring. PMK uten diaré kan ses en sjelden gang med utvikling til toksisk megakolon.

Kontrollundersøkelser har ingen hensikt siden toksinet vil være tilstede i flere dager uten at det er uttrykk for sviktende behandling eller residiv.

*Cl. difficile* assosiert kolitt/sykdom er i første rekke et sykehusproblem og følgelig diagnostikk på innlagte pasienter. Men tilstanden kan også enkelte ganger ses utenfor sykehus, slik at prøver fra ikke innlagte pasienter i spesielle tilfelle bør undersøkes.

De fleste uspesifikke diaré-tilstander assosiert med antibiotika bruk har ikke leukocytose, feber eller økte fekale leukocytter. Den hurtigste og sikreste diagnosen av PMK og *Cl. difficile* assosiert kolitt er kolonoskopi. Foruten utseende av typiske lesjoner kan diagnosen verifiseres ved biopsi.

Ved den mikrobiologiske diagnosen av *Cl. difficile* assosiert kolitt/sykdom bør man legge vekt på påvisning av toksin A som førstelinje diagnostikk. Dyrkning med toksinpåvisning hos den isolerte stammen har liten plass som diagnostisk metode.

##### 2) Smitteutredning og epidemiologiske undersøkelser mht *Cl. difficile*.

*Cl. difficile* assosiert sykdom er den hyppigste årsaken til nosokomial diaré. De fleste pasientene er asymptomatiske etter smitte. I avdelinger med opphoping av *Cl. difficile* assosiert sykdom kan det være aktuelt å gjøre en epidemiologisk utredning. I denne sammenheng bør det gjøres dyrkningsundersøkelser fra pasienter, personale, også personer uten diaré, og miljø. Toksinundersøkelser har mindre betydning.

Utredning bør være et samarbeid mellom representanter fra klinisk avdeling, mikrobiologisk laboratorium og sykehushygiene. Både fenotypiske og genotypiske metoder er tilgjengelige for karakterisering av *Cl. difficile*. Serotyping kan anvendes i epidemiologisk utredning (ikke tilgjengelig i Norge), likeledes antibiogram. I mange tilfelle vil det være behov for karakterisering av stammene ved hjelp av mer avanserte metoder (genotyping ved hjelp av plasmid DNA eller DNA-fingerprinting). Isolerte stammer bør fryses ned for senere undersøkelse og genotyping ved et referanselaboratorium (Folkehelsa).

Isolering av *Cl. difficile* vil også ha betydning for å skille mellom residiv og reinfeksjon i enkelte tilfelle, et skille som er avgjørende for videre oppfølging av tilfellet. Aktuelle

markører for å skille kan være antibiogram eller serotyping, men genotyping vil gi bedre resultater.

## 2.4.2 Prøvetaking og transport.

Til toksinundersøkelse og dyrkningsundersøkelse bør det sendes løs eller vandig avføring (> 5ml) i sterilt prøveglass uten tilsetning. Ved toksinundersøkelse bør transporttiden være kort (< 24t), evt bør prøvene sendes nedkjølt pga toksines dårlige holdbarhet. Ved behov for gjentatte undersøkelser sendes prøver hver annen dag. Vanligvis er det tilstrekkelig med en eller to prøver tatt tidlig i sykdomsforløpet. Kontroller etter positivt funn er ikke nødvendig.

Det har ingen hensikt å bruke anaerobe transportbeholdere ved dyrkningsundersøkelse.

## 2.4.3 Laboratoriediagnostikk.

Mikrobiologisk kan man ikke skille mellom *Cl. difficile* assosiert sykdom i form av diaré som forsvinner ved seponering av antibiotika og alvorlige kolitter. Dette vil være en klinisk differensiering og har betydning for å unngå unødvendig antibiotikabehandling.

Mikrobiologisk har man forsøkt forskjellige metoder i diagnosen av *Cl. difficile* assosiert sykdom. De mest aktuelle skal gis en omtale:

- 1) Påvisning av *Cl. difficile* toksin.
- 2) Dyrkning av *Cl. difficile*. Samt epidemiologiske markørundersøkelser.
- 3) Påvisning av *Cl. difficile* metabolitter.

### 1) Påvisning av *Cl. difficile* toksin.

Av diagnostisk interesse er både toksin A og toksin B.

Påvisning av toksin A ved Elisa teknikk. Det finnes flere kommersielt tilgjengelige tester på marked, Meridian Premier, Bartels Prima, Cambridge Cytolonr A+B, TechLab Tox-A Test, Vidas *Cl. difficile*, Becton Dickinson Toxin CD EIA. Elisa testene bruker antistoffer som er spesifikke for *Cl. difficile* toksin. Fem av testene påviser toksin A, mens en test påviser både toksin A og B (Cambridge Cytolonr A+B). Alle unntatt Vidas testen bruker mikrotiter plater og trenger ikke annet spesialutstyr enn et spektrofotometer. Tiltross for at Elisa testene bruker samme basis teknologi, er det forskjeller i testenenes sensitivitet (Bartels Prima kom best ut i forsøk med toksin A tilsatt i avføringsprøver). Sensitiviteten varier i forskjellige undersøkelser fra 85 til 90% sammenlignet med gullstandard som er påvisning av toksin B i cellekultur. Tiden for utførelse varierer fra 1 t (Meridian Premier, TechLab Tox-A Test, Becton Dickinson Toxin CD EIA) til 2,5 -3 t. Antall arbeidstrinn vil også variere, Meridian Premier, TechLab Tox-A Test, Becton Dickinson Toxin CD EIA vil være enkelst å utføre.

Påvisning av toksin B i cellekultur (mange cellelinjer er egnede, mest brukt er humane fibroblaster, HeLa-celler og VERO-celler) ved hjelp av cytopatogen effekt og nøytralisering med *Cl. sordelli* toksin er en pålitelig metode. Både toksin A og B vil bli dannet og begge vil gi cytopatogen effekt i form av avrundete celler. Den cytopatogene effekten av toksin B er mest uttalt og mange oppfatter metoden som en toksin B test. *Cl. sordelli* har HT (hemorrhagisk toksin) og LT (letalt toksin) toksiner som kryssreagerer med toksin A og B og antistoffer mot disse kan brukes i nøytralisasjonstest. Men metoden er tidkrevende og for mange laboratorier kan det være vanskelig å ha cellekulturer tilgjengelig. Alderen på cellekulturen kan innvirke på testen og likeledes fortynningen av faeces. Metoden er beskrevet i Manual of clinical microbiology, ASM 5. utgave.

## 2) Dyrkning og epidemiologiske markørundersøkelser av *Cl. difficile*.

Isolering av bakterien ved dyrkning kan være vanskelig og hvor vellykket resultatene er vil variere fra laboratorium til laboratorium.

Det mest anbefalte dyrkningsmediet er CCFA (cycloserin-cefoxitin-fruktose agar). Det er viktig med kvalitetskontroll av produserte medier. Avføringsprøver kan sås direkte ut på mediet. Andelen dyrkningspositive kan økes ved bruk av anrikningsmedium (HI-buljong med dobbelte konsentrasjoner av cycloserin og cefoxitin) eller alkohol / varme sjokk før utsæd. *Cl. difficile* kan presumptivt identifiseres på skålene ved koloniutseende, karakteristisk lukt og fluorescens. Bruk av hesteblood i skålene gir bedre vekst og øker graden av fluorescens. Toksigene og ikke toksigene stammer kan ikke skilles fra hverandre på skål og isolat må derfor testes på toksin produksjon (cellekultur eller Elisa).

Epidemiologiske markørundersøkelser har som nevnt betydning for å utrede nosokomiale utbrudd og for å skille mellom residiv og reinfeksjon.

Diverse metoder er tilgjengelige for å fenotype og genotype isolater av *Cl. difficile*. Genotyping synes å gi det beste resultatet for å se likheter og eventuelle forskjeller mellom isolater. Folkehelse vil være hjelpelig med epidemiologiske utredninger.

## 3) Påvisning av *Cl. difficile* metabolitter.

Det er to kommersielle latextester på marked som påviser *Cl. difficile* metabolitter, CDT fra Becton Dickinson og MERITEC fra Meridan Diagnostics. Undersøkelsen utføres direkte på faecesprøver uten noen isolering av bakterien. Testene er bygget opp etter samme prinsipp og påviser et stoffskifte enzym, glutamate dehydrogenase fra *Cl. difficile*. Enzymet er ikke toksisk og har ingen betydning for bakteriens virulens og det vil også være tilstede hos ikke toksigene stammer. Fordelen med latextestene er at de er lette å utføre og gir et hurtig svar. Men de er lite spesifikke for *Cl. difficile* sykdom siden de påviser også ikke toksigene stammer og gir kryssreaksjon med andre bakterier i faeces (*Cl. sporogenes*, *Peptostreptococcus anaerobius*). Hyppigheten av ikke toksigene stammer har blitt rapportert helt opp til 30% av *Cl. difficile* isolatene.

Det anbefales for latextestene at et positivt resultat konfirmeres med en toksin undersøkelse.

Under utprøving er en ny test, ImmunoCard fra Meridan Diagnostics. Testen er enkel og hurtig og har ikke noe sentrifugeringstrinn i prosedyren i motsetning til andre tester.

Den kan evt. hvis sensitiviteten er tilfredstillende brukes som en initial test med påfølgende konfirmasjon med toksin test.

#### 4) Nye metoder

Nye tester basert på deteksjon av toksin A og toksin B gener vil gi muligheter for økt sensitivitet og hurtigere svar. PCR har blitt brukt for påvisning av toksigene *Cl. difficile* ved oppformering av toksin A genet, toksin B genet eller begge genene. Men det er for tidlig å si noe om plassen til disse testene i det diagnostiske laboratoriet.

## 2.5 Mikrobiologisk diagnostikk av *Helicobacter pylori*

Kjetil K. Melby, Mikrobiologisk avdeling, Ullevål sykehus

### Generelt

*Helicobacter pylori* ble gjenopptaget i 1982. Den ble først gitt navnet *Campylobacter pyloridis*, deretter *C.pylori* og senere omdøpt til *Helicobacter pylori*. *H.pylori* er en liten gram negativ spiralformet bakterie som lever i slimlaget over magesekkens epitel. Mikroben er mikroaerofil. Den har multiple flageller i en ende og er livlig bevegelig. Et karakteristisk trekk er den spesielle og meget aktive urease som hydrolyserer urea(urinstoff) til ammoniakk og CO<sub>2</sub>.

### 2.5.1 Direkte påvisning av *H. pylori*.

**Indikasjon:** Pasienter med påvist ulcus ventriculi eller duodeni eller annen ventrikkelsykdom hvor *H.pylori* kan være en faktor av betydning.

**Prøvetagning:** Biopsi fra corpus og antrum (inflammert område) ved endoskopi.

**Transport:** Skjer i spesialrør (gjør det lett å «ta biopsien» opp igjen) i Stuarts transportmedium eller Portagerm pylori (kommersielt tilgjengelig). Transporttid bør være < 48t. Ved lengre tids transport anbefales at prøven fryses.

#### Dyrkning:

Tid: 7 - 14 dager. Lang inkubasjonstid anbefales hvis pasienten har stått på protonpumpeinhibitorer eller H<sub>2</sub>blokker siste 2-3 uker før prøvetagning fordi denne reduserer forekomsten av positive urease tester og dyrkning er fortsatt positiv ved en inkubasjonstid på 6-12 dager.

Medium: Blodagar, sjokoladeagar, Wilkinson Chalgren agar og andre medier er angitt i noen arbeider å gi bedre og raskere vekst.

Miljø: Mikroaerofilt 37 grC

#### Identifikasjon:

Katalase +, Oxidase +, Urease: +,

Nalidixin: Resistent, Cefalotin: Følsom

Mikroskopi: Små komma/spiralformede gram negative bakterier

#### Svar:

*H.pylori*

NB! Tett spiralformede bakterier kan tale for *H.heilmanni* - meget sjelden (tidl. kalt *Gastrospirillum hominis*).

#### Resistensbestemmelse:

Medium: Muller Hinton II med 5% saueblod, sjokoladeagar kan benyttes

Midler: Metronidazol, tetracyclin, makrolid (klaritromycin), ampicillin.

Metode: E-test (i henhold til forskrift)

*Kommentar:*

Agar-diffusjonsmetoden anbefales ikke. Veiledning for metronidazolresistens kan fås ved å anlegge metronidazolapp/tablett direkte ved primærutsæd eller ved første spredning.

«Ingen» hemmingssone antyder resistens. Data som kan støtte bruk av agardiffusjonsmetoden foreligger

*Referansem metode for resistensbestemmelse*

Agarfortynningsmetoden. Bør foregå regionalt. PCR baserte metoder bl.a. for metronidazol og makrolidresistens er under utprøving.

*Resistensangivelser:*

| <i>Middel</i>   | <i>Grupper</i> | <i>Brytningspunkt(er)</i> |
|-----------------|----------------|---------------------------|
| Metronidazol    | (S/R)          | >8 mg/l                   |
| Tetracyclin(er) | SIR            | som angitt i AFARapport   |
| Makrolider      | SIR            | som angitt i AFA rapport  |
| Ampicillin      | SIR/1-4        | som angitt i AFA rapport* |

\* Det foreslås at brytningspunkter som for gonokokker for ampicillin anvendes. Brytningspunktet vil da være 0,25 mg/l. Noen ganske få *H.pylori* vil da falle i -I-gruppen. Populasjonsendringer innen *H.pylori* vil ved dette lettere kunne følges. MIC-verdier bør registreres i laboratoriene. Alternativt bør mm soner registreres.

## **2.5.2 Annen mikrobiologisk diagnostikk av *H.pylori* infeksjon (Indirekte påvisning)**

*Serologi (påvisning av spesifikke antistoffer)*

Diagnostisk er forekomst av IgG/IgA antistoffer som forsvinner/reduseres betydelig (>50%) 6 mndr etter vellykket behandling.

*Metoder:*

ELISA IgG/IgA systemer til påvisning av antistoffer i serum/blod)

For mikrobiologisk laboratoriebruk: (sensitivitet/spesifitet 79,9-95/87-95) .

Hurtigtester til bruk i primærhelsetjenesten anbefales *ikke* brukt p.t.. Ikke evaluert i Norge. Angitt sensitivitet/spesifisitet (85-96/54-93)

*Indikasjon:* Oppfølging av pasienter hvor pusteprobe/endoskopi ikke lar seg gjennomføre av praktiske eller ressursmessige grunner. Påvisning av *H.pylori* hos pasient med kjent ulcus duodeni. Oppfølging av pasienter for kontroll.

*Oppfølging:* Prøven tas tidligst 6 mndr etter behandling ( $\geq 50\%$  titerreduksjon antyder vellykket behandling ) knfr tidligere.

### 2.5.2.1 Referanser:

1. Marshall B, Warren JR. Unidentified curved bacillus on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1:1273-75.
2. Goodwin CS, Armstrong JA, Chilvers T, Peters M, Collins M D, Sly L, McDonnell W, Harper WES. Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen.nov. as *Helicobacter pylori* comb. nov. and *Helicobacter mustelae* comb. nov. respectively. *Int J Syst. Bacteriol.* 1989;39: 397-400.
3. Jerris RC. *Helicobacter* Manual of Clinical microbiology, ASM 1996 p 492-498
4. Haug JB, Lerang F, Ragnhildstveit E, Moum B. *Helicobacter pylori* - Epidemiologic and Microbiologic Aspects in a Norwegian population. *Gut* 1995; 37:Suppl 1, A16,Abstr 61.
5. Legrang F, Haug JB, Moum B., Bjørneklett A, Berge T. Impact of acid suppressive treatment on test to diagnose *Helicobacter pylori* - infection. *Gut* 1996; 39:Suppl 2, A117,Abstr 4C48.
6. Henriksen T.H. Brorson Ø, Schøyen R, Thoresen T, Seteng D, Madebo T. Rapid Growth of *Helicobacter pylori* *Eur. J Clin Microbiol Infect Dis.* 1995;14: 1008-1011.
7. Jerris RC. *Helicobacter* Manual of Clinical microbiology, ASM 1996 p 492-498
8. Decross AJ, Marshall BJ, McCallum RW, Hoffmann SR, Barrett LJ, Guerrant RL. Metronidazol susceptibility testing for *Helicobacter pylori*; comparison of disk, brothm and agar dilution methods and their clinical relevance. *J Clin Microbiol.* 1993;31:1971-1974.
9. Digranes A & Melby KK (ed). Susceptibility testing of bacteria and fungi *Scand J Infect Dis* 1997. suppl 107.
10. Wang W-M, Chen CY, Jan CM, Chen LT, Perng DS, Lin SR, Liu CS,. Long Term follow up and serological study after triple therapy of *Helicobacter pylori* associated duodenal ulcer. *Am J Gastroenterol* 1994;89: 1793-1796.
11. Kosunen T. Antibody titre in *Helicobacter pylori* infection: Implication in the follow-up of antimicrobial therapy *Ann Med* 1995;27:605-607.
12. Feldman RA, Deeks JJ, Evans SJW, and the *Helicobacter* serology study group: Multilaboratory comparison of eight commercially available *helicobacter pylori* serology kits. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1995; 14:428- 433.
13. Crane C, Hay-Kaufmann M, Forrest T, Van Kell S, Comparison of three rapid tests for antibodies to *H.pylori*. . *Gut* 1996; 39:Suppl 2, A121,Abstr 4C69.

## 2.6 Vibrionaceae. Andre sjeldne bakterier.

Ørjan Olsvik, Mikrobiologisk lavdeling, Regionsykehuset i Tromsø.

Familien Vibrionaceae inkluderer generaene *Vibrio*, *Aeromonas*, *Plesiomonas* og *Photobacterium*. Kun de 3 førstnevnte vil bli behandlet i dette kapitlet.

### 1. *Vibrio*

De fleste species innen *Vibrio* kan forårsake gastrointestinale problemer. Relevansen for norske forhold gjør at listen blir noe kortere; *V.cholerae*, *V.parahaemolyticus*, *V.mimicus*, *V.hollisae*, *V.fluvialis* og *V.furniesii* kan være aktuelle agens.

#### 1.1 *Vibrio cholerae*

Det finnes toksigene og non-toksigene stammer med henblikk på evnen til å produsere koleratoksinet. Dessuten klassifiseres stammene serologisk i O1-gruppen og de øvrige som non-O1. O1-gruppen blir serologisk videre inndelt i serotypene Inaba og Ogawa og biokjemisk i El Tor og klassisk type. Tidligere ble bare toksigene O1-stammer tillagt stor klinisk og epidemiologisk betydning. Ettersom andre toksiner er blitt kjent, samt også en ny epidemisk stamme med serobetegnelsen O139, er sort-hvitt bildet blitt mer nyansert.

Klinisk er det mange graderinger fra lett diarè til *cholera gravis* med opptil 24 liter avføring pr døgn i opptil 4 døgn. Pasientene er syke i inntil 1 uke med en inkubasjonstid som sjelden er mer enn 1 dag. Etter at diarèen er over skiller pasientene ikke ut bakterier. Antibiotikabehandling er grunnet fremvekst (særlig i Afrika) av multiresistente stammer ikke anbefalt. Med oral eller intravenøs rehydrering synes det å være mulig å redusere mortaliteten fra 50 % (ubehandlet) til 0,5%.

Diagnostikk.

Alkalisk peptonbuljong kan med fordel benyttes som anrikningsmedium i 6-8 timer, men det er fullt mulig å så rett ut på MacConkey. TCBS (thiosulfat citrat galle-salt sukrose) er ofte brukt som selektive skåler, men har kort holdbarhet. *V. cholerae* vokser opp til kolonier meget raskt, 6-8 timer gir ofte resultater. Biotypene El Tor og klassisk skilles med hemolyse. Vær oppmerksom på at samme stamme kan skifte mellom serotypene.

Alle laboratorier bør ha O1 antiserum, nasjonalt referanselaboratorium bør i tillegg ha O139 samt muligheter til å bestemme serotyper. Toksinpåvisning (koleratoksin) kan gjøres med ELISA, eller tilgjengelige kits. Det enkleste er sannsynligvis bruk av PCR. De andre toksinene finnes det ikke rutinediagnostikk for.

*V.parahaemolyticus*-infeksjoner er ofte assosiert med inntak av marine produkter. Utbruddene er ofte små i omfang, og er hovedsaklig registrert i Japan i forbindelse med spising av rå eller halvrå fisk. Fekale isolater er ofte funnet å kunne fremstå som ukjente organismer etter å ha blitt isolert fra TCBS-skåler.

Mikroben produserer et termostabilt hemolysin som er ansvarlig for skade på tarmepithelet (Kanagawa positive), men påvisning synes mindre klinisk relevant, men

kan gjøres på blodskåler. I tillegg til diarè er intestinale kramper og hodepine ofte rapportert.

*V. minicus* gir diarè, men produserer ikke koleratoksin, men et varmestabilt enterotoksin som også kan sees i enkelte *V.cholerae*-stammer samt hos *V.fluvialis*. Inntak av marine produkter er vanlig ved de karakteristiske små utbruddene av *V.minicus*.

*V.hollisae* forårsaker diarè, men med andre toksiner enn andre vibrioer. Bakterien er, i motsetning til andre vibrioer, ikke påvist utenfor mennesket.

*V.fluvialis* er nylig ansett for å være enteropatogen. Den er ofte funnet i brakkvann og sykdom synes assosiert med inntak av fisk fra slike miljøer. Bakterien har vært involvert i store utbrudd i den 3. verden. Patogenitetsmekanismene synes å være enterotoksiner, men disse er ikke kjente.

*V.furnissii* er skilt ut fra *V.fluvialis* og har vært involvert i matvarebårne utbrudd. Diarè og gastrointestinale smerter er vanlige. Betydning og utbredelse er ukjent.

*Generelle diagnostiske momenter:* Vær oppmerksom på at 0129-resistente Vibrio nå er rapportert. Det er kun *V.cholerae* og *V.mimicus* som kan vokse også uten salttilskudd på minst 1%. Ellers kan en greit identifisere de aktuelle vibrioartene nevent her med arginindihydrolase, lysin- og ornithindecaboxylase.

## 2. *Plesiomonas*

Det eneste species her er *P.shigelloides*. Blod og slim er ofte funnet i samme avføringsprøve hvor det er isolert *P.shigelloides*, noe navnet kan bære preg av. Invasivitetsstudier er imidlertid fortsatt ikke konklusive. Det er fortsatt kontroversielt om bakterien danner noen av de kjente enterotoksinene. Et ST-lignende toksin er presentert av noen forfattere, andre finner det ikke. Bakterien er funnet i forbindelse med store vannbårne utbrudd i den 3. verden og Japan, men er fortsatt forholdsvis sjelden andre steder. AIDS pasienter er rapportert å bli meget syke av *P.shigelloides*, her inngår også sepsis. Isolatet fremstår ofte som laktosenegative *E.coli* på laktoseskåler. Bakterien er generelt lite fermentativ for sukkerarter.

## 3. *Aeromonas*

Selv om vi vanligvis bare identifiserer 3 species innen *Aeromonas*, *A.hydrophila*, *A.sobria* og *A.caviae* er det ved DNA-DNA hybridisering klart at det finnes minst 12 distinkte genotyper. *A.sobria* er nylig omdøpt til *A.veronii*, biovar *sobria*. Alle de tre nevnte species er isolert fra avføring hos friske individer og fra pasienter med diarè, noe som kan indikere at det finnes (entero)patogene og mindre patogene varianter innen *Aeromonas*. For noen stammer av *A.hydrophila* synes det klart at et (entero)cytotoksin er involvert i en patogenese, men fortsatt er mye ukjent. Denne arten isoleres imidlertid oftere og oftere i forbindelse med vannbårne utbrudd av diarè i snetrale deler av Europa.. Laktose-positive *Aeromonas* kan mistolkes som *E.coli* på MacConkey, men kjennes lett ved at de er oxidase positive. Selektive medier med antibiotika er usikre grunnet variabel resistens.

#### 4. Andre arter

AIDS pasienter får ofte diarèer med ukjent etiologi. Det er imidlertid ofte mulig å isolere renkulturer av bakterier som ikke vanligvis er assosiert med gastrointestinale problemer. Det samme forholdet gjelder i den 3. verden. En kan finne agens som synes å være assosiert med diarèesykdom, men uten at man kjenner noen patogenitetsegenskaper.

*Klebsiella pneumoniae* er ofte funnet å kolonisere premature barn intestinallyt. Noen av disse får diarè, mens andre synes å klare seg bra. Det er ingen annen observasjon enn at et ST-lignende toksin er funnet i noen stammer.

*Pseudomonas aeruginosa* er også funnet i avføring hos barn med diarè, og er oppgitt å kunne være spesifikk enterisk patogen. Dessverre finnes det lite dokumentasjon.

*Bacteroides fragilis* er funnet å kunne produsere et enterotoksin, og kliniske isolat i forbindelse med diarè er observert i både industrialiserte land og den 3. verden. Betydning og utbredelse er fortsatt ukjent.

## 2.7 Resistensbestemmelse av enteropatogene bakterier

Arnfinn Sundsfjord. Avd. for medisinsk mikrobiologi Universitetet i Tromsø, Mikrobiologisk avdeling, Regionsykehuset i Tromsø.

### Generelle betraktninger

Pasientrelaterte indikasjoner for resistensbestemmelse er avhengig av infeksjonskarakteristika og det aktuelle mikrobefunn. For en del enteropatogene bakterier har ikke resistensproblemer utviklet seg og antimikrobielt middel velges derfor på et empirisk grunnlag. Behovet for en rask, veiledende resistensbestemmelse vil være større for andre enteropatogene bakterier som Salmonella og Shigella, hvor resistensprofilen er mindre forutsigbar (1, 5, 7).

Regionale og nasjonale behov for overvåkning av resistensutvikling er en annen relevant indikasjon for å utføre resistensbestemmelser. Den enkelte mikrobes resistensprofil kan også være en viktig epidemiologisk markør.

Av generelle kommentarer bør også nevnes at rapportering av resistensbestemmelser kan oppfattes som en oppfordring til bruk av antimikrobielle midler uten at det nødvendigvis foreligger indikasjon for behandling. Selektiv rapportering eventuelt med veiledende kommentarer, anbefales derfor ved resistensbestemmelse av enteropatogene bakterier (4). Generell rapportering av resistensmønster med veiledende kommentarer vil også være et alternativ.

Agardiffusjonsmetode med depottabletter/-lapper (agardiffusjonsmetode) anbefales som metode for resistensbestemmelse av Enterobacteriaceae (4).

Agardiffusjonsmetode med en antibiotika-konsentrasjonsgradient på plaststrimler (E-test) anbefales ved resistensbestemmelse av kravfulle langsomtvoksende bakterier (Helicobacter og Campylobacter species) (2, 8).

### Campylobacter

I mangel på resistensutvikling og standardiserte metoder har ikke resistensundersøkelse av Campylobacter species vært rutinemessig utført. Økende forekomst av makrolid- og fluorokinolonresistens i C. jejuni isolater er rapportert (4, 7), spesielt hos immunsupprimerte pasienter som har vært behandlet over lengre tid. Resistensundersøkelse anbefales derfor utført på spesielle indikasjoner.

Anbefalt metode: E-test (2). Undersøkelsesrepertoar: Erytromycin, tetracykliner og gentamicin (ved bakteriemi) (4, 5, 7).

### Helicobacter pylori

Helicobacter pylori infeksjoner er en relativt ny indikasjon for antibiotikabehandling. Det anses viktig at resistensmønsteret for H. pylori overvåkes da det vil kunne få konsekvenser for anbefalt terapi. I Skandinavia rapporteres in vitro resistens mot metronidazole til 10-40% og mot claritromycin under 3%. Resistens mot amoxicillin er ikke beskrevet (3). Det er rapportert en sammenheng mellom terapivikt og claritromycin- samt metronidazole-resistens.

Anbefalt metode: E-test (8). Undersøkelsesrepertoar: Amoxicillin/ampicillin, klaritromycin, metronidazole, tetracyklin (3).

**Salmonella**

Antimikrobiell behandling av ukompliserte salmonelloser anbefales ikke (6). Resistensbestemmelse anbefales for alle salmonellaisolater med selektiv rapportering ved kompliserte infeksjoner og kronisk bærerskap evt. generell rapportering med veiledende kommentar.

Anbefalt metode: Agardiffusjonsmetode. Undersøkelsesrepertoar: Bør inkludere Ampicillin, fluorokinolon, kloramfenikol og trimetoprim-sulfa. Ceftriaxone ved multiresistens.

**Shigella**

Påvist shigellainfeksjon er indikasjon for antimikrobiell behandling (6). Alle isolater bør derfor rapporteres med resistensbestemmelse.

Anbefalt metode: Agardiffusjonsmetode. Undersøkelsesrepertoar: Bør inkludere Ampicillin, fluorokinolon og trimetoprim-sulfa. Ceftriaxone kan være et aktuelt preparat ved multiresistens og i behandlingen av shigelloser hos barn.

**Yersinia**

Ved ukompliserte enteritter eller pseudoappendicitt syndromer foreligger ikke sikre indikasjoner for antibiotikabehandling (6). Resistensbestemmelse anbefales med selektiv rapportering ved kompliserte eller kroniske infeksjoner evt. generell rapportering med veiledende kommentar.

Anbefalt metode: Agardiffusjonsmetode. Undersøkelsesrepertoar: Bør inkludere aminoglykosid, doxycyklin, fluorokinolon, og trimetoprim-sulfa.

## Referanser

1. Aleksic S, Katz A, Aleksic V, Bockemuhl. Antibiotic resistance of shigella strains isolated in the Federal Republic of Germany 1989-1990. *Zbl Bakt* 1993;279:484-93.
2. Huang MB, Baker CN, Banerjee S, Tenover FC. Accuracy of the E test for determining antimicrobial susceptibility of staphylococci, enterococci, *Campylobacter jejuni*, and gram negative bacteria resistant to antimicrobial agents. *J Clin Microbiol* 1992;35:3243-8.
3. Lerang F. *Helicobacter pylori* og antibiotikaresistens - konsekvenser for praktisk behandling. *Nytt om legemidler. Statens legemiddelkontroll* 1996;19:S 2:13-6.
4. Mickelsen PA, Tompkins LS. Use of bacteriology and mycology laboratories to diagnose gastrointestinal infections, p.1223-68. In: Blaser MJ, Smith PD, Ravdin JI, Greenberg HB, Guerrant RL (Eds.). *Infections in the gastrointestinal tract*. Raven Press, Ltd., New York 1995.
5. Murray BE. Resistance of *Shigella*, *Salmonella*, and other selected enteric pathogens to antimicrobial agents. *Rev Infect Dis* 1986;8:Suppl 2:S172-81.
6. Savarino SJ, Levine MM. Specific and nonspecific treatment of diarrhea, p. 638-46. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR (Eds.). *Infectious diseases*. WB Saunders Company, Philadelphia, 1992.
7. Svenungsson B. Behandling av tarminfektioner. *Läkartidningen* 1994;36:3163-6.
8. Van Zwet AA, Thijs JC, De Graaf B. Explanations for high rates of eradication with triple therapy using metronidazole in patients harbouring metronidazole-resistant *Helicobacter pylori* strains. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:250-2.

**Valg av antibakterielt middel for resistensbestemmelse av enteropatogene bakterier**

| Antibakterielt middel | Campylobacter <sup>α</sup> | Helicobacter pylori <sup>α</sup> | Salmonella <sup>δ</sup> | Shigella <sup>δ</sup> | Yersinia |
|-----------------------|----------------------------|----------------------------------|-------------------------|-----------------------|----------|
| Aminoglykosid         | x <sup>β</sup>             |                                  |                         |                       | x        |
| Ampicillin            |                            | x                                | x                       | x                     |          |
| Doxycyklin            | x                          | x                                | λ                       | λ                     | x        |
| Erytromycin           | x                          | x                                |                         |                       |          |
| Fluorokinolon         | γ                          |                                  | x                       | x                     | x        |
| Kloramfenikol         |                            |                                  | x                       |                       |          |
| Metronidazol          |                            | x                                |                         |                       |          |
| Trimetoprim - sulfa   |                            |                                  | x                       | x                     | x        |

α E-test anbefales

β Campylobacter bør resistensbestemmes mot aminoglykosider ved bakteriemi.

γ Fluorokinoloner kan være et aktuelt preparat i behandlingen av campylobacter ved multiresistens

δ Ceftriaxone kan være et aktuelt preparat i behandlingen av shigelloser og alvorlige salmonella-infeksjoner. Spesielt ved multiresistens og i behandlingen av barn.

λ Gjelder avvik fra AFA gruppens anbefaling

## 2.8 serologiens plass ved diagnostikk av og komplikasjoner etter salmonelloser, shigelloser, yersinioser, campylobacteriose, kolera og *Helicobacter pylori*-infeksjoner

Trygve Tjade, Mikrobiologisk avdeling, Sentralsykehuset i Akershus

### Innledning

Serologiske tester er indirekte metoder til å påvise årsaken til infeksjoner. Disse gir derfor ikke den samme diagnostiske sikkerhet og det samme kliniske utbyttet som en direkte påvisning av mikroben. En av årsakene til dette er forekomsten av falske positive og falske negative analysesvar. Analysewarets troverdighet varierer med prevalensen av sykdommen i den befolkningsgruppen testen brukes på. Dette innebærer at klinikeren og laboratoriet kan "regulere" hvor godt eller dårlig en test fungerer ved å endre indikasjonsstillingen (tabell 1 og 2).

Tabell 1. Hvorledes prevalensen av sykdommen hos de personene en analyse brukes på bestemmer forekomsten av falske positive og falske negative analysesvar. Det er brukt en test med sensitivitet på 90% og spesifisitet på 95%.

| Prevalens (%) | Falske positive svar (%) | Falske negative svar (%) |
|---------------|--------------------------|--------------------------|
| 50            | 5,3                      | 9,5                      |
| 10            | 33,3                     | 1,2                      |
| 1             | 86,9                     | 0,1                      |

Tabell 2. Påliteligheten av analyseresultatet når en test med lav sensitivitet brukes på en høyprevalensgruppe (f.eks. Borrelia-serologi brukt ved Erythema migrans). Testens sensitivitet er 50% og spesifisitet 90%.

| Prevalens (%) | Falske positive svar (%) | Falske negative svar (%) |
|---------------|--------------------------|--------------------------|
| 80            | 4,8                      | 69                       |

Et annet problem er at antistoffene ofte kommer så sent at nytteverdien i det akutte stadium er liten. Dette betyr også at et positivt analysesvar ikke sier noe om mikroben fortsatt er tilstede. Positiv serologi alene er derfor ikke behandlingsindikasjon. Før analysen gjøres, er det følgelig god praksis å gjøre seg opp en mening om testresultatet kan forventes å få noen klinisk betydning.

### Salmonella

I ASM: Manual of Clinical Laboratory Immunology, 4. ed. 1992 står det om Widal test: «As experience was gained in the critical evaluation of the test, however, particularly in the past 30 years, when the incidence of typhoid fever was declining markedly in the industrialised world and antibiotics and immunisations were being widely used, the shortcomings of the test (i.e., its lack of both sensitivity and specificity) became clear. As a result, the Widal test is mentioned mainly for its historic value and its unreliability as now concluded in most contemporary textbooks of infectious diseases.»

Det er gjort forsøk på å erstatte den klassiske Widal reaksjon med ELISA-tester for å måle antistoffer mot antigener hos *S. typhi*. Men problemet med falske positive og falske negative svar har vært som for Widal. Forsøk på å påvise bakterien i fæces er å foretrekke fremfor Widal.

Salmonella kan gi:

1. Diaré
2. Reaktiv arthritt (kne, rister) som i gjennomsnitt varer 5½ måned
3. Feber av ukjent årsak, abcesser (bl.a. lever), Reiters syndrom, erythema nodosum og pseudoappendicitt

### **Indikasjon for serologi**

Ved diaré er serologi ikke indisert. Ved 2 og 3 kan serologi brukes dersom det foreligger kliniske tegn eller opplysninger som peker mot salmonellose. Liberal bruk gir tolkningsproblemer ved positivt svar.

Behovet er så lite at tilbudet om serologi bør sentraliseres til regionlaboratoriene.

## **Shigella**

I forløpet av en shigellose dannes det antistoffer både mot somatisk antigen og, ved *S. dysenteriae* type 1, Shiga toksin. Tester for å påvise disse er suboptimale m.h. til både spesifisitet og sensitivitet. Dessuten er sykdommen over når antistoff kan påvises.

### **Indikasjon for serologi**

Dyrkning er serologi overlegent. Det er ikke noe behov for serologisk diagnostikk.

## **Yersinia enterocolitica**

Serogruppene O:3 og O:9 dominerer i Europa. De fleste tilfellene i Norge tilhører O:3. Det brukes agglutinasjonstest og ELISA. ELISA gir best sensitivitet (egen erfaring). Dessuten gir ELISA objektiv avlesning og muligheter for automatisering. Parsera kan brukes til å øke den diagnostiske sikkerheten. Dersom ELISA brukes, bør diagnostikken ikke baseres på IgM alene. Det bør også kontrolleres om IgG kommer i en rekonvalesensfaseprøve.

*Y. enterocolitica* kan gi:

1. Diaré
2. 10-30% av voksne med reaktiv arthritt (knær, ankler, tær, fingre, rister) som har vart i over 1 måned skyldes *Y. enterocolitica*
3. Bakterien er årsak til 30% av tilfellene med erythema nodosum.
4. Mesenterial adenitt, terminal ileitt og exudativ faryngitt

### **Indikasjon for serologi**

Hos pasienter med diaré er serologi ikke indisert. Fæces til dyrkning av bakterien er å foretrekke. Ved 2 og 3, hvor bakterien så ofte er årsaken, gir serologi rimelig god treffsikkerhet og anbefales derfor. Ved 4 kan serologi brukes der resultatet har kliniske konsekvenser. Det må utvises forsiktighet med tolkningen av et positivt svar der det ikke foreligger andre opplysninger som støtter diagnosen.

Serogruppe O:9 er så sjelden i Norge at serologi mot denne bare bør gjøres i spesielle tilfeller. Denne diagnostikken bør derfor sentraliseres til et laboratorium med landsfunksjon. Serologi overfor O:3 bør være et tilbud på fylkeslaboratoriene.

## **Campylobacter**

Kommersielle test-kit finnes ikke på en norske markedet.

Campylobacter kan gi:

1. Diaré
2. 10-40% av Guillain-Barrés sykdom
3. Reaktiv arthritt, pseudoappendicitt, erythema nodosum, terminal ileitt og mesenteriell adenitt

### **Indikasjon for serologi**

Hos pasienter med diaré er serologi ikke indisert. Fæces til dyrkning av bakterien er en bedre metode. Serologi bør være et tilbud ved 2. Ved 3 kan serologi brukes når det foreligger kliniske tegn eller opplysninger som peker mot Campylobacter-etologi. Serologi kan være et nyttig epidemiologisk verktøy.

Pr. i dag finnes det ikke noe tilbud om Campylobacter-serologi i Norge. Det bør vurderes om det bør etableres et laboratorium med landsfunksjon.

## **Kolera**

Antistoffer mot celleveggantigener kan måles med vibriocid assay, agglutinasjonstest eller ELISA. Antistoffer mot koleratoksin kan måles med nøytralisasjonstest eller ELISA.

### **Indikasjon for serologi**

Ved akutt kolera er påvisning av bakterien i fæces å foretrekke. Serologi kan være aktuelt hos pasienter som har kommet seg etter alvorlig diare, men hvor dyrkningsforsøk ikke er gjort og hvor diagnose er ønskelig av epidemiologiske årsaker.

Det er ikke noe behov for serologisk diagnostikk i Norge.

## **Helicobacter pylori**

Dyrkning av biopsi er «gullstandarden». Ureasetest på biopsi er enkelt og kostnads-effektivt og gir svar samme dag. «Pustetest» er en alternativ metode både for å diagnostisere sykdom og bestemme behandlingsresultatet. Metoder for påvisning av mikroben ved PCR er også utviklet. Infiserte personer utvikler, nesten uten unntak, høye, stabile IgG titre, og mindre vanlig IgA-svar. En positiv IgG-test skiller ikke mellom tilstedeværelsen av aktiv eller passiv sykdom eller kolonisering. Prevalensen av H. Pylori antistoffer øker med alderen: 10% av de i aldersgruppen 20-30 år, 47% i aldersgruppen 60-70 år. Etter vellykket antimikrobiell behandling, synker IgG-nivået langsomt. Det kan gå 3-6 måneder før en påvisbar titerendring kan påvises. Etter ca. 6 måneder er titret ca. 50% av nivået før behandling. Ved behandlingssvikt vil titret forbli det samme eller øke. Kort tid etter smitte, er der en IgM-serokonversjon. IgM synker deretter til ikke-påvisbart nivå, men ved residiv kan ny IgM-serokonversjon forekomme.

Fordelen med serologi i forhold til metoder basert på biopsi er at en ved biopsi risikerer å ta prøve fra et område som ikke inneholder bakterien. I slike tilfeller vil serologi være mer følsom enn biopsibaserte metoder. Flere fabrikanter har kommet med serologiske hurtigtester for bruk i allmennpraksis. Noen primærleger igangsetter antimikrobiell behandling på grunnlag av positiv hurtigtest. Enkelte produsenter anbefaler at serologi alene ikke er tilstrekkelig til å igangsette terapi, men at testene kan brukes som en screeningtest for å plukke ut kandidater til de mer ressurskrevende undersøkelsene som er nevnt over. Kvantitativ serologi er lansert

som en metode for å måle behandlingseffekt. P.g.a. det langsomme titerfallet er en slik kvantitativ antistoffmåling bare av interesse på lang sikt (3-6 måneder). *Helicobacter pylori*-IgG-ELISA-tester på det norske markedet er listet opp i tabell 3. Testenes ytelse avhenger av indikasjonsstillingen for bruk av testene. Størst nytteverdi oppnås når de brukes på personer under 45 år som har typisk ulcusklinikk.

Tabell 3. *Helicobacter pylori*-IgG-ELISA-tester i Norge.

| Navn                                             | Fabrikkat          | Leverandør                    |
|--------------------------------------------------|--------------------|-------------------------------|
| Pyloriset™ EIA-G                                 | Orion Diagnostica  | Orion Diagnostica as          |
| <i>Helicobacter pylori</i> -IgG-ELISA            | DPC Biermann GmbH  | Kjemi-Diagnostikk A.S         |
| µPlate <i>Helicobacter</i> IgG                   | Boeringer Mannheim | Medinor AS                    |
| Enzygnost® Anti- <i>Helicobacter pylori</i> /IgG | Behring            | Behring Diagnostica Norway AS |

#### **Indikasjon for serologi**

Serologisk diagnostikk bør bare tilbys høyprevalensgrupper. Indikasjonsstillingene og retningslinjer for oppfølging av de som tilbys behandling som følge av positiv serologi settes opp i samråd med fylkets gastroenterologer og infeksjonsmedisinere. Det anbefales et tilbud om kvantitativ *Helicobacter pylori*-IgG-serologi på fylkesnivå. Behandling kan startes på grunnlag av et positivt resultat i første prøve. Den første prøven fryses ned og settes opp sammen med ny prøve som mottas 3-6 måneder etter behandling for å vurdere behandlingseffekt (evt. titerfall).

## Oppsummering i tabellform

Tabell 4. Oppsummering - Indikasjoner for serologi og hvem som skal utføre den

|               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|---------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Salmonella    | <ul style="list-style-type: none"> <li>Dersom det foreligger andre kliniske tegn eller opplysninger som peker mot salmonellose: <i>Reaktiv arthritt</i>, <i>feber av ukjent årsak</i>, <i>abcesser (bl.a. lever)</i>, <i>Reiters syndrom</i>, <i>erythema nodosum</i> og <i>pseudoappendicitt</i>.</li> <li>Sentraliseres til regionlaboratoriene.</li> </ul>                                                                                                                                                |
| Shigella      | <ul style="list-style-type: none"> <li>Det er ikke noe behov i Norge.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| Yersinia      | <ul style="list-style-type: none"> <li>Voksne med <i>reaktiv arthritt</i>, <i>erythema nodosum</i>.</li> <li>Når svaret har kliniske konsekvenser: <i>Mesenterial adenitt</i>, <i>terminal ileitt</i> og <i>exudativ faryngitt</i>.</li> <li>Serologi overfor O:3 gjøres på fylkeslaboratoriene, O:9 sentraliseres til et laboratorium med landsfunksjon.</li> </ul>                                                                                                                                         |
| Campylobacter | <ul style="list-style-type: none"> <li><i>Guillain-Barrés sykdom</i>.</li> <li>Når det foreligger kliniske tegn eller opplysninger som peker mot Campylobacter-etologi: <i>Reaktiv arthritt</i>, <i>Pseudoappendicitt</i>, <i>erythema nodosum</i>, , <i>terminal ileitt</i> og <i>mesenteriell adenitt</i>.</li> <li>Som <i>epidemiologisk verktøy</i>.</li> </ul> <p>Pr. i dag finnes det ikke noe serologisk tilbud i Norge. Det bør vurderes om det bør etableres et laboratorium med landsfunksjon.</p> |
| V.cholerae    | <ul style="list-style-type: none"> <li>Det er ikke noe behov i Norge.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| Helicobacter  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Kvantitativ Helicobacter-serologi anbefales.</li> <li>Serologisk diagnostikk bør bare tilbys høyprevalensgrupper (personer &lt;45 år med typisk ulcusklinikk). Indikasjonsstillingen og retningslinjer for oppfølging av pasienter som tilbys behandling som følge av positiv serologi settes opp i samråd med fylkets gastroenterologer og infeksjonsmedisinere.</li> <li>Gjøres på fylkesnivå</li> </ul>                                                            |

## Litteratur

1. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Fourth edition 1995.
2. American Public Health Association: Control of Communicable Diseases Manual. Editor: Abram S. Benenson. Sixteenth Edition. 1995.
3. American Society for Microbiology: Manual of Clinical Laboratory Immunology. Editors: Noel R. Rose, Everly C. de Macario, John L. Fahey, Herman Friedman, Gerald M. Penn. Fourth edition. 1992.
4. American Society for Microbiology: Manual of Clinical Microbiology. Editors: Patrick R. Murray, Ellen Jo Baron, Michael A. Pfaller, Fred C. Tenover, Robert H. Yolken. Sixth edition. 1995.
5. R. A. Feldman et. al: Multi-Laboratory Comparison of Eight Commercially Available Helicobacter pylori Serology Kits. Eur. J. Clin. Micobiol. Infect. Dis., 1995, 14: 428-433.
6. Branka A. M. van de Wouw et al.: Comparison of Three Commercially Available Enzyme-Linked Immunosorbent Assays and Biopsy-Dependent Diagnosis for Detecting Helicobacter pylori Infection. Journal of Clinical Microbiology, Jan. 1996, p. 94-97.

## 2.9 Parasittologi

Svein Gunnar Gundersen. I.avdeling, Ullevål sykehus, Oslo

Avføring kan mikroskoperes direkte for screening på parasitter. Sensitiviteten øker betydelig hvis man gjennomfører formol-ether konsentrering og mikroskoperer bunnfallet. Når man sammenligner med et parasittologisk atlas er spesifisiteten ved mikroskopi nær 100%.

Det finnes kits for immunologisk påvisning (IF, ELISA etc) av parasitter i avføringen (kryptosporidier, giardia etc.), men nytten av disse er foreløpig omdiskutert.

Amøbeserologi er nyttig ved mistanke om ekstraluminal amøbiasis og schistosomiasis-serologi kan styrke indikasjonen for rektalbiopsi. Forøvrig har serologi liten plass i norsk hverdags-parasittologi knyttet til avføringsproblematikk.

| <b>Patogen</b>        | <b>Indikasjoner</b>                               | <b>Klinikk</b>                                                                       |
|-----------------------|---------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| Entamøba histolytica* | Reise til endemisk område<br>Klinikk              | Hyppig, småklattet avføring med slim og blod. Ikke feber.                            |
| Giardia lamblia*      | Reise til endemisk område<br>Klinikk              | Vanntynne diarèer, spesilet om natten. Øvre GI-plager<br>Luftoppstøt med råtten lukt |
| Kryptosporidier**     | Reise til endemisk område<br>Klinikk. Immundefekt | Vanntynne diarèer                                                                    |
| Ascaris lumbricoides  | Klinikk                                           | Sparsom klinikk.<br>Romoppfylling                                                    |
| Hakemark              | Reise til endemisk område<br>Klinikk              | Anemi. Redusert ernæring. Slapphet                                                   |
| Strongyloides         | Reise til endemisk område<br>Klinikk              | Slapphet etc. Redusert ernæring                                                      |
| Trichuris             | Reise til endemisk område<br>Klinikk              | Slapphet. Vekslede diarè                                                             |
| Bendelmark***         | Reise til endemisk område<br>Klinikk              | Redusert ernæring<br>B 12-mangel ved fiskebendelmark. Ellers romoppfylling etc.      |
| Schistosoma****       | Reise til endemisk område<br>Klinikk              | Kroniske tarmlager med slim og blod. Evt. leveraffeksjon                             |

\*: Levende parasitt sees ved mikroskopi av fersk, varm avføring uten tilsetning. Amøber kan dessuten dyrkes.

\*\* : Påvises ved modifisert Ziehl-Neelsen farging av avføring etter formol-ether konsentrasjon eller IF.

\*\*\*: Egg av bendelmark kan påvises i mikroskopet, men "ledd" av marken gir en like sikker diagnose. Taenia soleum og Taenia saginata kan differensieres på utseende av "ledd", mens eggene er like.

\*\*\*\*: Ved mistanke om *S.mansoni* eller *S.japonicum* kan man henvise til rektal-biopsi, som er mer sensitiv, om egg ikke finnes i avføringen. Biopsi kan presses mellom to objektglass og mikroskoperes direkte. Ved mistanke om *S.haematobium* må urin samles, sedimenteres over noen timer, bunnfallet sentrifugeres og mikroskoperes.

### 2.9.1 Forslag til oppgavefordeling i norsk parasittologi

| Patogen                | Fylkesoppgave                                              | Regionoppgave*<br>Landsfunksjon                        |
|------------------------|------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| Entamøba histolytica*  | Formol-ether konsentrering<br>Mikroskopi, evt. direkte     | Serologi. Dyrkning.<br>Patogenisitet<br>(enzymmønster) |
| Giardia lamblia*       | Formol-ether konsentrering<br>Mikroskopi, evt. direkte     | Evt. IF                                                |
| Kryptosporidier**      | Formol-ether konsentrering<br>Mikroskopi, evt. Z-N-farging | Ziehl-Neelsen farging.<br>Ev. IF                       |
| Ascaris lumbricoides   | Formol-ether konsentrering<br>Mikroskopi                   |                                                        |
| Hakemark               | Formol-ether konsentrering<br>Mikroskopi                   |                                                        |
| Strongyloides          | Formol-ether konsentrering<br>Mikroskopi                   |                                                        |
| Trichuris              | Formol-ether konsentrering<br>Mikroskopi                   |                                                        |
| Bendelmark***          | Formol-ether konsentrering<br>Mikroskopi                   |                                                        |
| Schistosoma****        | Formol-ether konsentrering<br>Mikroskopi                   | Serologi                                               |
| Barnemark (enterobius) | Formol-ether konsentrering<br>Mikroskopi                   |                                                        |

\*: Hva regionsykehusene bør gjøre i tillegg til fylkessykehusene. Metodeutvikling og utprøving av nye teknikker innen konsentrering, immunologi og genteknologi bør være regionoppgave og/eller tillegges landsfunksjon. Det bør etableres en landsfunksjon for humanmedisinsk parasittologi.

## 2.10 Virusdiagnostikk - indikasjoner og metoder

Svein Arne Nordbø, Avdeling for mikrobiologi, Regionsykehuset i Trondheim, 7006 Trondheim

Virale gastroenteritter representerer et stort helseproblem globalt sett, spesielt i U-land hvor spebarndødeligheten er høy. I vår del av verden er de helsemessige konsekvensene av slike utbrudd beskjedne, men de samfunnsøkonomiske konsekvensene kan derimot være betydelige. Det er derfor viktig at vi på nasjonal basis har en diagnostisk beredskap som står i forhold til behovene.

### Aktuelle agens

Det er beskrevet mange virus som kan gi symptomer fra mage/tarmkanalen. De viktigste gruppene som kan gi gastroenteritt er rotavirus, enteriske adenovirus, Norwalk virus/små runde strukturerte virus (SRSV)/calicivirus og astrovirus. Tabell 1 og 2 gir en oversikt over epidemiologiske, kliniske, diagnostiske og virologiske data vedrørende disse virusinfeksjonene.

### Indikasjoner

- Gastroenteritter hos barn
- Lokale utbrudd av akutt mage/tarmsykdom
- Nosokomiale gastroenteritter
- Gastroenterittutbrudd på institusjoner (barnehager, alders- og sykehjem etc.)
- Gastroenteritter med kort inkubasjonstid
- Mistanke om matbåren infeksjon
- Mistanke om neonatal infeksjon - inkludert pasienter uten tarmsymptomer!

### Prøvemateriale

Minimum 1 cm<sup>3</sup> fæces uten tilsetning.

### Metoder

*Antigenpåvisning:*

- Enzymimmunoassay (EIA/ELISA)
- Latexagglutinasjon (LA)
- Elektronmikroskopi (EM)
- Immunelektronmikroskopi (IEM)
- Amplifiserte nukleinsyretester (polymerase kjedereaksjon, PCR)
- [Dyrking i cellekultur]

*Antistoffpåvisning:*

- Enzymimmunoassay (EIA/ELISA)
- Immunfluorescens (IF)
- Komplementbindingsreaksjonen (KBR)

### Diagnostikk

Ved lokale mage/tarminfeksjoner er antigenpåvisning absolutt å foretrekke fremfor antistoffpåvisning.

Kommersielle reagenser er tilgjengelig for påvisning av antistoffer mot rotavirus og enteriske adenovirus (KBR, ELISA og IF), men sensitiviteten er lav.

Rotavirus og enteriske adenovirus kan påvises ved en rekke forskjellige teknikker, hvorav ELISA eller LA egner seg best i praktisk diagnostikk. Ved små prøvevolum er det enklest å benytte LA, mens ELISA er å foretrekke ved større volum. Det er viktig å være klar over at enkelte kommersielle rotavirustester (spesielt LA-baserte tester) kan gi uspesifikke reaksjoner i fæces fra nyfødte og spebarn.

De fleste agens er vanskelige eller umulige å dyrke i cellekultur. Som referansemetode brukes derfor EM eller IEM (immun elektron mikroskopi).

PCR har i mange tilfeller vist seg å ha høyere sensitivitet enn EM, og vil i fremtiden være et av de viktigste redskapene for påvisning og identifikasjon av gastroenterittvirus.

Ved epidemiske utbrudd av gastroenteritter uten kjent etiologi, bør fæcesprøve tatt så tidlig som mulig i sykdomsforløpet (innen 1 uke etter sykdomsutbruddet) og sendes til regionlaboratorium/referanselaboratorium for EM-u.s. Frysetining av prøvene medfører nedsatt sensitivitet ved etterfølgende undersøkelse med EM og/eller PCR, og bør unngås!

Det kan også være aktuelt å samle inn sera i akutfase og rekonvalesentfase fra enkelte kasus. I slike tilfeller bør det derfor alltid tas kontakt med referanselaboratoriet før prøveforsendelsen.

### *Konklusjon*

Det er rimelig at fylkeslaboratorier som ikke har egen virologisk seksjon disponerer enkle immulologiske metoder (LA eller ELISA) for påvisning av enteriske adenovirus og rotavirus. All annen virusdiagnostikk av gastroenteritter bør foregå ved et nasjonalt referanselaboratorium eller ved et regionlaboratorium med spesialkompetanse.

### **Supplerende virologiske undersøkelser**

Pasienter som også har symptomer fra andre organer (lever, luftveier, hud, muskulatur etc.) bør utredes serologisk og evt. med andre prøver til påvisning av virus.

Ved akutte eller kroniske tarmsymptomer fra immunsupprimerte pasienter (inkl. AIDS) bør man først og fremst tenke på CMV-infeksjon (tarmbiopsi!), men også andre virus kan være aktuelle agens.

### **Referansefunksjoner**

Alle regionlaboratoriene disponerer elektronmikroskop, men erfaringsnivået er forskjellig. Størst kompetanse har Avdeling for virologi ved Folkehelse, og det er naturlig at dette miljøet har en nasjonal referansefunksjon.

Også når det gjelder påvisning av gastroenterittvirus med PCR-teknikk er det den samme avdelingen som har den bredeste kompetansen.

Ved Veterinærinstituttet har man etablert en PCR-teknikk for påvisning av Norwalk virus, men denne metoden er ikke ferdig evaluert, og det eksisterer således ingen rutine-diagnostiske tilbud for påvisning av virus i drikkevann/næringsmidler.

## 2.11 Oppfølging - kontroll. Enkeltpasient.

Jørgen Lassen, Avdeling for bakteriologi, Statens institutt for folkehelse

Alle tilfelle av akutt gastroenteritt bør inntil definitiv etiologisk diagnose foreligger, oppfattes som infektøs og smittsom. Forholdsregler må vurderes i hvert enkelt tilfelle, men generelt bør personer med uttalt diarè utelukkes fra arbeid og skoler inntil symptomene har gitt seg.

Personer som *ikke har økt risiko* for å spre agens til andre, bør deretter stort sett uten videre tillates å ta opp sine normale aktiviteter. Selv om de skulle være *bærere* av agens, vil sjansen for å spre mikroben til andre være forsvinnende liten.

Personer som *har økt risiko* for å spre agens til andre, det vil si som tilhører "risikogruppene", må imidlertid vurderes med henblikk på en nøyere oppfølging. Etter en entydig infektøs diarè bør disse generelt ha vært symptomfri i 48 timer før de gjenopptar sine normale aktiviteter. Ved særlige etiologier, må de også ha tilfredsstillende spesifiserte krav til kontrollprøver før dette kan skje.

Vi kan definere følgende risikogrupper:

**Risikogr. 1.:** Personer i næringsmiddelindustrien (inkudert serveringssteder) som kommer i direkte kontakt med næringsmidler som skal nytes rå eller uten ytterligere oppvarming.

**Risikogr. 2.:** Helsepersonell som har direkte kontakt (eller kontakt via servering av mat) med pasienter som er særlig utsatt for infeksjonssykdommer eller for hvem infeksjoner vil kunne ha særlig alvorlige konsekvenser.

**Risikogr. 3.:** Barn under 5 år i institusjoner (herunder vanlige barnehager).

**Risikogr. 4.:** Andre som av ulike grunner vil ha problemer med å kunne ivareta en tilfredsstillende personlig hygiene.

Alle pasienter/bærere, og eventuelt nærkontakter, skal få instruks om generelle hygieniske tiltak, herunder nødvendigheten av håndvask, vask av tilgriset klær og sengetøy (f.eks. at omsorgspersoner bør bruke engangshansker, vask av tilgriset tøy skal skje ved 85-90°C, vask av vaskekraner, dørhåndtak på toalettet o.l. bør skje daglig, av toalettsetet etter hver gangs bruk av utskilleren osv.).

Hospitaliserte utskillere bør isoleres med "kontaktsmitteregime".

Oppfølging av enkelttilfeller har som siktemål

(i) ved *pålagte* kontrollprøver fra risikogruppene å søke å hindre spredning av patogene agens til andre ved å gjennomføre enkelte restriksjoner så lenge vedkommende er utskiller, samt å dokumentere smittefrihet så fort som mulig for å lette på de aktuelle restriksjonene.

(ii) ved *frivillige* kontrollprøver fra ikke-risikogruppene å dokumentere overfor pasienten hvorvidt vedkommende er utskiller, og fortsatt bør etterleve de generelle forholdsreglene, eller er blitt smittefri og følgelig kan avslutte disse. En dokumentert smittefrihet vil av enkelte også oppleves som en psykisk lettelse.

Kontrollprøver er *aldri* nødvendige etter at en diagnose er etablert og så lenge symptomene vedvarer! Antall nødvendige kontrollprøver for øvrig må vurderes i forhold til risiko for spredning, sykdommens alvorlighetsgrad og hvor stor den vanligvis nødvendige infeksjonsdosen er.

**Tabell 1. Forslag til kontrollprøver av bærere av enteropatogene agens.**

| Agens                                    | Kontrollprøver                             |                     |                                   |                                     | Epidemiologiske undersøkelser                                               |
|------------------------------------------|--------------------------------------------|---------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
|                                          | Tid mellom prøvene ved asympt. positivitet |                     | Krav til antall negativite prøver |                                     |                                                                             |
|                                          | Risikogr                                   | Andre               | Risikogrupper                     | Andre                               |                                                                             |
| Salmonella - tyfoid-gruppen*             | ukentlig                                   | ukentlig - månedlig | 5 prøver med 2 dagers mellomrom   | 3 prøver med 1 dags mellomrom       | Prøver fra familiekontakter og kontakter i risikogrupper                    |
| Salmonella - gastro-enterittgr.          | ukentlig                                   | månedlig            | 3 prøver med 2 dagers mellomrom   | 1-3 prøver med 1-2 dagers mellomrom | Klinisk vurdering av familiekontakter og kontakter i risikogrupper          |
| Sh. dys + Sh. boydii                     | ukentlig                                   | hver 2. uke         | 3 prøver med 2 dagers mellomrom   | 3 prøver med 2 dagers mellomrom     | Klinisk vurdering av familiekontakter. Prøver fra kontakter i risikogrupper |
| Sh.sonnei + Sh.flexneri                  | ukentlig                                   | månedlig            | 3 prøver med 2 dagers mellomrom   | 1-3 prøver med 1-2 dagers mellomrom | Klinisk vurdering av familiekontakter og kontakter i risikogrupper          |
| Campylo-bacter                           | ukentlig                                   | -                   | 1-2 prøver med 2 dagers mellomrom | -                                   |                                                                             |
| Yersinia                                 | ukentlig                                   | -                   | 1-2 prøver med 2 dagers mellomrom | -                                   |                                                                             |
| V.cholerae                               |                                            |                     | 3 prøver med 2 dagers mellomrom   | 3 prøver med 2 dagers mellomrom     | Klinisk vurdering                                                           |
| Andre Vibrio sp./ Aeromonas/ Plesiomonas | -                                          | -                   | -                                 | -                                   |                                                                             |
| E.coli                                   |                                            |                     |                                   |                                     |                                                                             |
| EHEC                                     | ukentlig                                   | hver 2. uke         | 3-5 prøver med 2 dagers mellomrom | 1-3 prøver med 2 dagers mellomrom   | Prøver fra familiekontakter og i risikogrupp                                |
| EPEC/ETEC                                | -                                          | -                   | -                                 | -                                   | -                                                                           |
| EIEC                                     | som Shigella dysenteriae/Sh.boydii         |                     |                                   |                                     |                                                                             |

\* Aktuelle kontrollprøver med henblikk på bærersituasjon kan også være duodenalaspirat og Widalreaksjon (Vi-antistoff).

Tabell 2. Sammenligning mellom ulike forslag til kontrolltiltak.

|                               | <b>PHLS/London (Comm.Dis.Rep.; 1995,5(11))</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | <b>Control Comm Dis Man APHA 16. utg. 1995</b>                                                                                                                                                                                                                  | <b>Sverige</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | <b>Eget forslag</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|-------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Salmonella-tyfoidgr.          | <p><i>Kontrollprøver:</i> R.gr.1: 6 negative prøver tatt med <u>2 ukers</u> mellomrom<br/>R.gr. 3+4: 3 neg. prøver tatt med <u>1 ukes</u> mellomrom</p> <p><i>Eksklusjon:</i><br/>R.gr.1,3,4: inntil smittefrihet<br/>R.gr.2 + andre: inntil symptomfrihet</p> <p><i>Kontakter:</i> Til R.gr.1,3,4: 3 neg. prøver med <u>1 ukes</u> mellomrom</p> | <p><i>Kontrollprøver:</i><br/>Alle: Minst 3 neg. prøver tatt med <u>1 dags mellomrom</u> minst 1 mnd, etter debut.</p> <p><i>Eksklusjon:</i><br/>R.gr.1-4: inntil smittefrihet</p> <p><i>Kontakter:</i> R.gr.1-4: 2 neg. prøver med <u>1 dags</u> mellomrom</p> | <p><i>Kontrollprøver:</i><br/>R.gr.: 5 negative prøver, en prøve pr dag<br/>Andre: 3 negative prøver</p> <p><i>Eksklusjon:</i><br/>R.gr. 1- 4: inntil smittefrihet<br/>Førskolebarn i daghjem</p> <p><i>Kontakter:</i> Evt. i R.gr. 1-4 og familiemedlemmer.<br/>Antall prøver ikke spesifisert</p>                          | <p><i>Kontrollprøver:</i><br/>R.gr.: 5 negative prøver med minst 2 dagers mellomrom<br/>Andre: 3 negative prøver med minst 1 dags mellomrom</p> <p><i>Eksklusjon:</i><br/>R.gr. 1-4: inntil smittefrihet<br/>Andre: etter risikovurdering</p> <p><i>Kontakter:</i> I risikogr. Familiemedlemmer.<br/>Inntil 3 negative prøver</p> |
| Salmonella-gastro-enterittgr. | <p><i>Kontrollprøver:</i> Ingen</p> <p><i>Eksklusjon:</i> R.gr.1-4: 48t. etter symptomfrihet</p> <p><i>Kontakter:</i> R.gr.1-4: Klinisk vurdering</p>                                                                                                                                                                                             | <p><i>Kontrollprøver:</i><br/>R.gr. 1-4: 2 neg. prøver tatt med <u>1 dags</u> mellomrom</p> <p><i>Eksklusjon:</i><br/>Inntil symptomfrihet<br/>R.gr.4: inntil smittefrihet</p> <p><i>Kontakter:</i><br/>R.gr.1-4: Prøver skal tas.</p>                          | <p><i>Kontrollprøver:</i><br/>R.gr. 1-4: 3 negative prøver, en prøve daglig<br/>Andre: 1 negativ prøve etter ca. 2 måneder.</p> <p><i>Eksklusjon:</i><br/>R.gr. 1-4: inntil smittefrihet<br/>Andre: inntil symptomfrihet</p> <p><i>Kontakter:</i>Evt. i R.gr.1-4 og familiemedlemmer.<br/>Antall prøver ikke spesifisert</p> | <p><i>Kontrollprøver:</i><br/>R.gr.: 3 negative prøver med minst 2 dagers mellomrom<br/>Andre: 1-3 negative prøver med minst 1 dags mellomrom</p> <p><i>Eksklusjon:</i><br/>R.gr.: inntil smittefrihet<br/>Andre: inntil symptomfrihet</p> <p><i>Kontakter:</i>Klinisk vurdering av kontakter i risikogr. og familie</p>          |

|                         | <b>PHLS/London (Comm.Dis.Rep.; 1995,5(11))</b>                                                                                                                                                                            | <b>Control Comm Dis Man APHA 16. utg. 1995</b>                                                                                                            | <b>Sverige</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                               | <b>Eget forslag</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|-------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Shigella sp             | <p><i>Kontrollprøver:</i><br/>Sh. dys.: 2 negative prøver<br/>Andre: ingen</p> <p><i>Eksklusjon:</i><br/>R.gr.1: 48 t. etter symptomfrihet<br/>Andre: Inntil symptomfrihet</p> <p><i>Kontakter:</i> Klinisk vurdering</p> | <p><i>Kontrollprøver:</i><br/>R.gr.1-4: Alle shig.sp.: 2 negative prøver med 1 dags mellomrom.</p> <p><i>Kontakter:</i><br/>R.gr.1-4: Prøver skal tas</p> | <p><i>Kontrollprøver:</i><br/>R.gr. 1-4: 5 negative prøver<br/>Andre: 3 negative prøver<br/>En prøve pr dag</p> <p><i>Eksklusjon:</i><br/>R.gr.1-4: inntil smittefrihet<br/>Andre: inntil symptomfrihet</p> <p><i>Kontakter:</i><br/>Evt. i R.gr. 1-4 og familiemedl.<br/>Antall prøver ikke spesifisert</p> | <p><i>Kontrollprøver:</i><br/>Alle: 3 negative prøver med 2 dagers mellomrom</p> <p><i>Eksklusjon:</i><br/>R.gr.1-4: Inntil smittefrihet<br/>Andre: Inntil symptomfrihet</p> <p><i>Kontakter:</i><br/>Ved Sh.dys.+ Sh.boydii: prøver fra kontakter i risikogrupper<br/>Forøvrig: Klinisk vurdering av kontakter i risikogr. og familiemedlemmer.</p> |
| Campylobacter           | <p><i>Kontrollprøver:</i> Ingen</p> <p><i>Eksklusjon:</i> R.gr.1-4: 48 t etter symptomfrihet</p> <p><i>Kontakter:</i> Klinisk vurdering</p>                                                                               | <p><i>Kontrollprøver:</i>Ingen</p> <p><i>Eksklusjon:</i> R.gr.1-4: inntil symptomfrihet (?)</p> <p><i>Kontakter:</i> Evt. ved utbrudd</p>                 | <p><i>Kontrollprøver:</i> Ingen</p> <p><i>Eksklusjon:</i> R.gr.1-4: inntil symptomfrihet.</p> <p><i>Kontakter:</i> Normalt ingen</p>                                                                                                                                                                         | <p><i>Kontrollprøver:</i> R.gr.1-2: 1-2 prøver med 2 dagers mellomrom.</p> <p><i>Eksklusjon:</i> R.gr. 1-2: inntil smittefrihet<br/>Andre: inntil symptomfrihet.</p> <p><i>Kontakter:</i> Evt. ved utbrudd</p>                                                                                                                                       |
| Yersinia enterocolitica | <p><i>Kontrollprøver:</i> Ingen</p> <p><i>Eksklusjon:</i> R.gr.1-4: 48t etter symptomfrihet</p> <p><i>Kontakter:</i> Klinisk vurdering</p>                                                                                | <p><i>Kontrollprøver:</i> ingen (?)</p> <p><i>Eksklusjon:</i> R.gr.1-4: inntil symptomfrihet (?)</p> <p><i>Kontakter:</i> Evt. ved utbrudd</p>            | -                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | <p><i>Kontrollprøver:</i> R.gr.1-2: 1-2 prøver med 2 dagers mellomrom</p> <p><i>Eksklusjon:</i> R.gr.1-2: inntil smittefrihet<br/>Andre: Inntil symptomfrihet.</p> <p><i>Kontakter:</i> Ingen</p>                                                                                                                                                    |

|                                   | <b>PHLS/London (Comm.Dis.Rep.; 1995,5(11))</b>                                                                                                                                                                            | <b>Control Comm Dis Man APHA 16. utg. 1995</b>                                                                                                                                                              | <b>Sverige</b> | <b>Eget forslag</b>                                                                                                                                                                                                                                                   |
|-----------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| V.cholerae                        | <p><i>Kontrollprøver:</i> 2 negative prøver med 1 dags mellomrom</p> <p><i>Eksklusjon:</i> R.gr.1-4: 48t etter symptomfrihet</p> <p><i>Kontakter:</i> Klinisk vurdering</p>                                               | <p><i>Kontrollprøver:</i></p> <p><i>Eksklusjon:</i></p> <p><i>Kontakter:</i> Prøver fra familie<br/>Overvåking av personer som har spist/drukket sammen med pas. siste 5 dager</p>                          | -              | <p><i>Kontrollprøver:</i> 2 negative prøver tatt med minst 1 dags mellomrom</p> <p><i>Eksklusjon:</i> Inntil smittefrihet.</p> <p><i>Kontakter:</i> Klinisk vurdering</p>                                                                                             |
| Andre<br>Vibrio sp./<br>Aeromonas | <p><i>Kontrollprøver:</i> Ingen</p> <p><i>Eksklusjon:</i> R.gr.1-4: 48t etter symptomfrihet</p> <p><i>Kontakter:</i> Klinisk vurdering</p>                                                                                | -                                                                                                                                                                                                           | -              | <p><i>Kontrollprøver:</i> Ingen</p> <p><i>Eksklusjon:</i> Inntil symptomfrihet</p> <p><i>Kontakter:</i> Ingen</p>                                                                                                                                                     |
| E.coli -<br>EHEC                  | <p><i>Kontrollprøver:</i> R.gr.1-4: 2 negative prøver med 2 dagers mellomrom</p> <p><i>Eksklusjon:</i> 2 dager etter symptomfrihet<br/>R.gr.1-4: 2 dager etter smittefrihet</p> <p><i>Kontakter:</i> I risikogrupper.</p> | <p><i>Kontrollprøver:</i> R.gr.1-4: 2 negative prøver med minst 1 dags mellomrom</p> <p><i>Eksklusjon:</i> 2 dager etter smittefrihet</p> <p><i>Kontakter:</i> Diarè i risikogrupper: 2 negative prøver</p> | -              | <p><i>Kontrollprøver:</i> R.gr. 1-4: 3-5 negative prøver<br/>Andre: 1-3 negative prøver<br/>Prøvene tas med 2 dagers mellomrom</p> <p><i>Eksklusjon:</i> 2 dager etter smittefrihet</p> <p><i>Kontakter:</i> Prøver fra kontakter i risikogr. og familiemedlemmer</p> |
| E.coli -<br>andre                 | <p><i>Kontrollprøver:</i> Ingen</p> <p><i>Eksklusjon:</i> 2 dager etter symptomfrihet</p> <p><i>Kontakter:</i> Klinisk vurdering</p>                                                                                      | - (EIEC behandles evt. som Shigella)                                                                                                                                                                        | -              | <p><b>EIEC:</b> som Shigella sp.<br/><b>EPEC/ETEC:</b> ingen spesielle forholdsregler.</p>                                                                                                                                                                            |

## 2.12 Oppklaring av utbrudd med næringsmiddelbåren sykdom

### *Generelle prinsipper - Hva er laboratorienes rolle?*

Georg Kapperud, Avdeling for bakteriologi, Statens institutt for folkehelse og Seksjon for næringsmiddelhygiene, Norges veterinærhøgskole

Smittsomme sykdommer som overføres gjennom næringsmidler (mat- og drikkevarer, inkludert drikkevann) er et økende internasjonalt problem. Oppklaring av utbrudd med næringsmiddelbåren sykdom er viktig bidrag til forebyggende helsearbeid. Hensikten er å stanse det aktuelle utbruddet og samtidig skaffe kunnskap som kan gi grunnlag for å hindre en eventuell gjentakelse. Ifølge Smittevernloven (§ 7-2) er det kommunelegens plikt å organisere og lede arbeidet med å etterforske og oppklare utbrudd, samt utarbeide beredskapsplaner for dette arbeidet. Effektiv etterforskning av utbrudd krever imidlertid tett tverrfaglig samarbeid lokalt og sentralt mellom helsevesenet, næringsmiddeltilsynet og iblant også andre etater. Både utbruddet selv og de tiltak som iverksettes som følge av etterforskningen, kan ha store helsemessige, økonomiske og handelspolitiske konsekvenser. Det er derfor viktig at arbeidet skjer målbevisst, forpliktende og med optimal utnyttelse av faglige ressurser på tvers av etats- og profesjonsgrensene. Denne artikkelen beskriver generelle prinsipper for etterforskning av utbrudd med infeksjonssykdommer og intoksikasjoner hvor næringsmidler er den mest sannsynlige kilden. Mange av de samme prinsippene kan anvendes også for andre typer smittsomme sykdommer. Etterforskningen består av en rekke trinn; mange av disse vil være gjenstand for samtidig utredning (Figur 1):

- Verifiser at det foreligger et utbrudd.
- Varsle berørte instanser og etabler samarbeid.
- Karakteriser utbruddet (hvem, hva, hvor og når).
- Etablér foreløpig og endelig (helst etiologisk) diagnose.
- Dann hypoteser om årsaken.
- Utprøv hypotesene - identifiser smitekilden.
- Eliminér smitekilden, bryt smitteveiene og forebygg gjentakelse.
- Rapportér.

### **Verifiser at det foreligger et utbrudd og varsle berørte instanser**

Ved utbrudd menes her to eller flere sykdomstilfeller som mistenkes for å ha felles kilde, eller at antallet tilfeller klart overskrider det man ville forvente innenfor et område i et begrenset tidsrom (det endemiske nivå). Ved mistanke om utbrudd er det viktig at alle berørte instanser varsles umiddelbart. Smittevernloven og den tilhørende meldingsforskriften understreker den gjensidige varslingsplikt mellom kommunehelsetjenesten og det kommunale næringsmiddeltilsynet, primærlegens plikt til å varsle kommunelegen samt kommunelegens plikt til å varsle Folkehelse (se MSIS-rapport uke 38, 1995). Det kommunale næringsmiddeltilsynet bør dessuten varsle SNT. Kommunelegen varslers eventuelt

primærlegene i kommunen. Det kan også være aktuelt å varsle publikum generelt eller spesielle risikogrupper.

### **Karakteriser utbruddet**

All etterforskning av utbrudd starter med å beskrive hva som skjedde, når og hvor det skjedde og hvem som ble rammet (deskriptiv epidemiologi). Ved å karakterisere utbruddet ved hjelp av blant annet pasientenes alder, kjønn, geografiske fordeling og sykdomsdebut kan man danne hypoteser om smittekilde, avgrense populasjonen rammet av utbruddet og identifisere risikogrupper. For å gjøre informasjonen oversiktlig, kan det være nyttig å systematisere dataene i form av tabeller, diagrammer eller kart på en slik måte at de gir svar på følgende type spørsmål:

- Er det noe som er felles for disse pasientene ?
- Er det en reell opphopning av pasienter i visse aldersgrupper, yrkesgrupper, andre demografiske grupper eller geografiske områder o.l.?

Utbruddets forløp i tid kan beskrives ved en epidemikurve, som er et histogram der hver enkelt pasient avmerkes på en tidsakse med tidspunktet for sykdomsdebut. Denne kurven gir informasjon om utbruddet skyldes en punktkilde eller en kontinuerlig kilde og kan, sammen med antatt inkubasjonstid, brukes til å avgrense tidspunktet da smitten fant sted.

### **Still en foreløpig og endelig (etiologisk) diagnose**

Den etiologiske diagnose er et viktig spor i etterforskningen. Kjennskap til etiologien kan bidra til å danne hypoteser om smittekilden, bl. a. fordi mange patogener er knyttet til spesielle risikofaktorer og årsaksforhold. Funn av agens i prøver fra pasienter muliggjør dessuten sammenligning med tilsvarende agens fra mistenkte smittekilder. Om mulig bør man derfor sørge for at det blir tatt prøver fra utvalgte pasienter som er representative for utbruddet med hensyn på sykdomsdebut, kliniske manifestasjoner og varighet av sykdommen. En etiologisk diagnose av næringsmiddelbårne infeksjoner er som oftest basert på påvisning av agens i avføringsprøver. (Ved mistanke om virusbettinget gastroenteritt er det også aktuelt med blodprøver). Ved næringsmiddelbårne intoksikasjoner er imidlertid påvisning av agens i avføringsprøver ofte vanskelig, og eventuelle funn kan være vanskelige å vurdere. Dersom man ønsker undersøkelse med hensyn på virus eller sporedannende bakterier (*Bacillus cereus* og *Clostridium perfringens*) må dette presiseres på rekvisisjonen som følger prøven til laboratoriet, siden undersøkelse av slike agens ikke alltid er rutine. Retningslinjer for prøvetaking og forsendelse av prøver til virologisk undersøkelse er presisert i MSIS-rapport uke 9, 1995.

For at ikke etterforskningen skal forsinkes, er det nødvendig å stille en foreløpig diagnose ved hjelp av kliniske opplysninger i påvente av laboratorieresultatene. Når det gjelder akutte gastroenteritter, kan man på dette stadiet i beste fall skille mellom:

- **Bakterielle intoksikasjoner:** Sykdommer med kort inkubasjonstid (timer) og kort varighet (<2 dager). Vanligvis karakterisert ved oppkast som initielt dominerende symptom, sjelden med feber. (Botulisme skiller seg ut ved typiske nevrologiske manifestasjoner).

- *Lokale tarminfeksjoner:* Sykdommer med moderat til lang inkubasjonstid (dager), som regel av flere dagers varighet. Vanligvis karakterisert ved diaré som dominerende symptom, ikke sjelden med feber.

### **Dann hypoteser om smitekilden**

Viktige hjelpemidler for å danne hypoteser om smitekilden er:

- Systematisk karakterisering av utbruddet (se foran).
- Pasientenes foreløpige og etiologiske diagnose (se foran).
- Inspeksjon av lokaler hvor mistenkte næringsmidler er produsert, tilberedt eller frembudt, for å avsløre eventuelle hygienebrister.
- Laboratorieundersøkelser av matrester, råvarer, kjøkkenmiljø etc. med hensyn på standardparametre for hygienisk kvalitet og eventuelt forekomst av patogener eller toksiner.
- Opplysninger fra enkeltpersoner, syke såvel som friske, om konsum av næringsmidler og eksponering for andre risikofaktorer.
- Systematisk intervju av en rekke pasienter med hensyn på eksponeringer i inkubasjonsperioden for å identifisere felles faktorer.
- Opplysninger fra, og eventuelt prøvetaking av, personer som produserer, tilbereder eller serverer maten.
- Opplysninger fra referanselaboratorier om tidligere funn av utbrudds stammen fra næringsmidler, dyr, miljø og mennesker.
- Generelle kunnskaper om næringsmiddelhygiene og om forekomst av aktuelle agens i næringsmidler, dyr, miljø og i befolkningen, samt kunnskaper om næringsmidlers sammensetning og produksjon.
- Spesielle kunnskaper om næringsmiddelhygieniske og produksjonsmessige forhold i lokale bedrifter og etablisementer.

Det er spesielt nyttig å gjennomføre systematiske pilotintervjuer av pasienter m.h.p. eksponeringer i inkubasjonsperioden v.h.a. et omfattende og detaljert spørreskjema, for å identifisere felles faktorer. En slik pilotundersøkelse vil kreve intervju med 5-15 pasienter som nylig har vært syke, og som er representative for utbruddet med hensyn på sykdomsdebut og kliniske manifestasjoner. Intervjuene bør utføres så snart som mulig etter sykdomsdebut slik at pasientene ikke har rukket å glemme viktige detaljer. Pasienter som mistenkes for å være sekundærtilfeller, ekskluderes. Intervjuene bør utføres av et begrenset antall personer (fortrinnsvis én) som er motivert og trenet for formålet, og som har kunnskaper innen næringsmiddelmikrobiologi og -hygiene, samt kjennskap til næringsmidlers sammensetning og produksjon, slik at vedkommende kan danne kvalifiserte hypoteser om smitekilden. Pasientintervjuene hører til helsetjenestens ansvarsområde, men kan med fordel utføres av næringsmiddeltilsynet på grunn av den spesielle kompetanse som foreligger der. Det er en fordel å bruke et strukturert spørreskjema tilpasset hvert enkelt utbrudd (eksempler på skjema brukt tidligere kan fås ved henvendelse til forfatteren). Dersom man i utgangspunktet har sterk mistanke til ett eller noen få, bestemte måltider, vil det være tilstrekkelig å lage et

kortfattet spørreskjema med utgangspunkt i menyen. Spørreskjemaet bør uansett inneholde følgende hovedpunkter:

- Personlige og demografiske data
- Kliniske opplysninger
- Kostanamnesen
- Eksponering for andre risikofaktorer

Det innhentes detaljerte opplysninger om konsum av næringsmidler i inkubasjonsperioden. For infeksjoner: den siste uken før sykdommen startet, vanligvis de siste tre dagene. For bakterielle intoksikasjoner: det siste døgnet før sykdommen startet, vanligvis de siste 4-10 timene. Pasientene kan intervjues personlig, over telefon eller ved postlagt spørreskjema. En fremgangsmåte som har vist seg å øke kvaliteten på informasjonen, består i å sende eller levere spørreskjemaet til pasienten på forhånd slik at vedkommende får anledning til å friske opp hukommelsen og fylle ut skjemaet før intervjuet gjennomføres.

### **Utprøv hypotesene - identifiser smitekilden**

Etter at man har dannet hypoteser om smitekilden, kan disse bekreftes, sannsynliggjøres, revideres eller forkastes ved å innhente ytterligere informasjon med de hjelpemidlene som er nevnt i forrige avsnitt. Hypotesene kan utprøves ved to prinsipielt forskjellige fremgangsmåter som bygger på henholdsvis laboriemetoder og metoder innen analytisk epidemiologi. Disse fremgangsmåtene er ikke gjensidig ekskluderende, men supplerer hverandre.

#### Laboriemetoder

Smittekilden søkes identifisert ved målrettet prøvetaking og analyse av mistenkte næringsmidler for å undersøke om den patogene mikroben som var årsak til utbruddet, eller eventuelle toksiner, kan påvises. Patogener isolert fra henholdsvis pasienter og mistenkte smitekilder sammenlignes innbyrdes og med kontrollstammer fra andre kilder ved hjelp av epidemiologiske markøranalyser.

#### Analytisk-epidemiologiske metoder

Laboriemetoder er i mange tilfeller ikke tilstrekkelige til å identifisere smitekilden. Dette kan skyldes:

- Prøvemateriale er ikke tilgjengelig (mistenkte næringsmidler er fortært eller kastet).
- Relevant metodikk for påvisning av mikrober eller toksiner er ikke tilgjengelig.
- Analysen gir falske negative resultater (metodene har lav sensitivitet, patogene bakterier er drept eller subletalt svekket). Ved bakterielle intoksikasjoner kan bakteriene være drept ved varmebehandling av næringsmidlet, mens preformerte, termostabile toksiner har beholdt sin aktivitet.
- Utbruddsstammen isoleres fra den mistenkte smitekilden, men markøranalyser viser at stammen tilhører en vanlig variant som også kan finnes i andre kilder.

En analytisk-epidemiologisk undersøkelse, ofte i form av en pasient-kontroll-studie ("case-control-study"), kan gjøre det mulig å identifisere smitekilden i en situasjon hvor mikrobiologiske metoder ikke fører frem. I denne typen undersøkelser tar man utgangspunkt i

pasienter som nylig har vært syke og intervjuer dem om eksponeringer i inkubasjonsperioden ved hjelp av et strukturert spørreskjema basert på et begrenset antall hypoteser dannet tidligere i etterforskningen. Pasientene sammenlignes med friske kontrollpersoner som intervjues på samme måte. Pasienter og kontrollpersoner sammenlignes ved statistisk analyse for å avdekke systematiske (signifikante) forskjeller når det gjelder eksponering for risikofaktorer. Dette kan gjøres ved å beregne relativ risiko (dersom alle personer i utbrudds-populasjonen er intervjuet) eller odds ratio (dersom undersøkelsen er begrenset til et utvalg syke og friske personer) for hver av de undersøkte faktorene, samt P-verdier og konfidensintervall (se Tabell 1). Planlegging, gjennomføring og analyse av slike undersøkelser bør skje i samarbeid med sentrale institusjoner med erfaring på området.

Analytisk-epidemiologiske metoder kan ikke brukes dersom:

- alle de tilstedeværende ble syke (ingen friske kontrollpersoner),
- alle spiste alle retter som ble servert (ingen ikke-eksponerte kontrollpersoner),
  - for få pasienter eller kontrollpersoner er tilgjengelig (ikke mulig å påvise statistisk holdbare forskjeller).

TABELL 1. Beregning av relativ risiko og odds ratio

|                   | Antall personer |           | Angrepsrater      |
|-------------------|-----------------|-----------|-------------------|
|                   | Syke            | Ikke syke |                   |
| Spist pølser      | <b>A</b>        | <b>B</b>  | $R_+ = A / A + B$ |
| Ikke spist pølser | <b>C</b>        | <b>D</b>  | $R_o = C / C +$   |

Relativ risiko (RR) =  $R_+ / R_o$       Odds ratio (OR) =  $AD / BC$

Hvis RR (eller OR) er signifikant større enn 1, styrker dette hypotesen at pølser var smittekilden. Hvis RR (eller OR) ikke er signifikant forskjellig fra 1, er det ikke grunnlag for å mene at pølser var smittekilden.

### Eliminér smittekilden, bryt smitteveiene og forebygg gjentakelse

For å stanse utbruddet er det nødvendig å eliminere smittekilden eller bryte smitteveiene. Underveis i etterforskningen vil det ofte være nødvendig å iverksette øyeblikkelige tiltak på bakgrunn av foreløpige resultater for å stanse utbruddet. En viktig hensikt med utbruddsetterforskning er å hindre at den hygienbristen som gjorde utbruddet mulig, gjentar seg. Etterforskningen er ikke fullført før forebyggende tiltak er satt i verk, og det er kontrollert om disse følges opp på en effektiv måte.

### Rapportér

Rapportér resultatene slik at andre kan høste lærdom av erfaringene.

#### 2.12.1 Anbefalinger: laboratorienes oppgaver

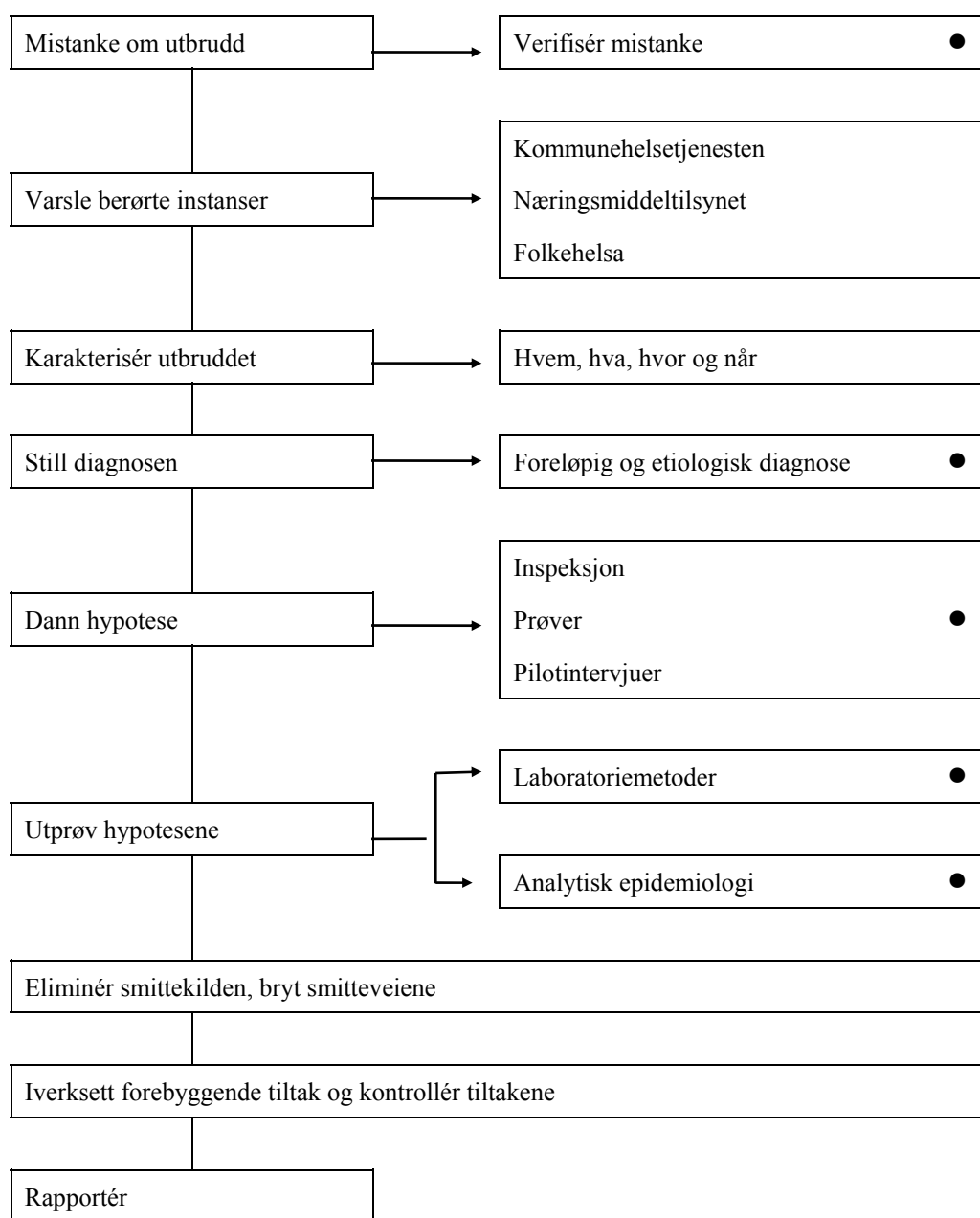
1. **Oppdage utbrudd:** Laboratoriet kan være den første instans der mistanke om utbrudd oppstår ved at dette påviser samme agens i et påfallende høyt antall avføringsprøver motatt i løpet av et begrenset tidsrom. Ved utbrudd som omfatter flere kommuner eller hele landet kan antallet tilfeller i hver enkelt kommune være for lavt til at det registreres som et problem av lokale myndigheter. Laboratoriene bør derfor sensibilisere sine ansatte når det gjelder muligheten for at utbrudd kan opptre og hvordan dette kan oppdages og rapporteres.
2. **Varsle:** Smittevernloven med tilhørende forskrifter nevner ikke eksplisitt at de medisinske mikrobiologiske laboratoriene har varslingsplikt når det gjelder utbrudd. Ved mistanke om utbrudd bør laboratoriene likevel varsle kommunhelsetjenesten i de(n) berørte kommunen(e). Videre vil det naturlig å varsle Folkehelsa ved Referanselaboratoriet for enteropatogene

mikrober for blant annet å avtale hvem som skal utføre eventuelle epidemiologiske markøranalyser, forsendelse av stammer etc.

3. **Karakterisere utbruddet:** Laboratoriene bør kunne bistå kommunehelsetjenesten med opplysninger om utbruddets omfang og etiologi (antall pasienter, pasientenes opptreden i tid og deres alders-, kjønns- og geografiske fordeling, agens) og gi opplysninger om tidligere funn av samme agens som antas å kunne ha betydning for oppklaringsarbeidet.
4. **Motivere og gi råd:** Laboratoriene bør motivere kommunehelsetjenesten til å etterforske utbruddet og gi konkrete og generelle råd om hvordan dette kan gjøres. Slike råd kan blant annet bestå i følgende:
  - Minne om at kommunehelsetjenesten ifølge smittevernloven har det primære ansvar for å organisere og lede arbeidet med å oppklare utbrudd. Kommunehelsetjenesten har også plikt til å varsle det kommunale næringsmiddeltilsynet og Folkehelsa om at utbrudd foreligger. **Det bør oppmuntres til samarbeid med næringsmiddeltilsynet.**
  - Eventuelt sende spørreskjema med tilhørende instruksjon (vedlagt) og MSIS-rapportene for uke 13 og 14, 1996 hvor prinsippene for oppklaring av utbrudd er beskrevet. Det kan også henvises til artikkel om samme tema i Tidsskriftet nr. 28, 1996.
  - Opplyse om at detaljerte råd angående oppklaringsarbeidet kan fåes ved henvendelse til Folkehelsa.
5. **Undersøke prøver:** Under oppklaringsarbeidet vil kommunehelsetjenesten kunne ønske å undersøke prøver fra nye pasienter som måtte dukke opp, kontakter til pasientene, enkelte befolkningsgrupper og mistenkte smittebærere. Dette sammen med oppfølgingsprøver fra pasienter som tilhører risikogrupper, vil kunne medføre en betydelig ekstra belastning på laboratoriets rutineaktivitet.
6. **Epidemiologiske markøranalyser:** I de fleste utbrudd vil det være ønskelig at stammer isolert fra såvel pasienter som kontakter og mistenkte smittebærere (eller kilder) snarest mulig sendes til et nasjonalt referanselaboratorium for verifisering, typing og undersøkelse med epidemiologiske markøranalyser. Referanselaboratoriet for enteropatogene mikrober ved Folkehelsa mottar rutinemessig blant annet alle isolater av *Salmonella* spp. fra personer, husdyr, slakt, næringsmidler, fôrvarer og miljø fra hele landet. Ved utbrudd kan Referanselaboratoriet bidra til å danne hypoteser om smitekilden samt bekrefte, sannsynliggjøre, revidere eller forkaste hypotesene ved å sammenligne utbruddsstammen med stammer tidligere mottatt fra forskjellige kilder.
7. **Identifisere kontrollpersoner:** Dersom mikrobiologiske metoder ikke fører frem, kan det komme på tale å utføre pasient-kontroll-undersøkelser for å identifisere smitekilden. Kontrollpersoner skal som regel velges tilfeldig fra den populasjonen som ble rammet av utbruddet. Ofte vil man for hver enkelt pasient velge 1-2 kontrollpersoner med samme kjønn og omtrent samme alder som pasienten ("matching"). Enkelte laboratorier har etablert rutiner for hvordan slike kontroller kan identifiseres ved hjelp av Folkeregisteret ved sykehuset.

Planlegging og gjennomføring av slike undersøkelser bør skje i samarbeid med sentrale instanser med erfaring på området.

**FIGUR 1.** Flytskjema for undersøkelse av utbrudd med næringsmiddelbåren sykdom. Områder der laboratoriene har spesiell kompetanse er markert (•)



## 2.13 Referansefunksjoner - enteropatogene mikrober.

Jørgen Lassen, Avdeling for bakteriologi, Statens institutt for folkehelse

Hensikten med referansefunksjoner innen enteropatogene mikrober er

- (i) å sikre en optimal individuell klinisk diagnostikk av tarminfeksjoner generelt og
- (ii) legge et grunnlag for en nasjonal, målrettet epidemiologisk overvåking for særlig viktige eller hyppige forekommende tarminfeksjoner.

Den *individuelle* kliniske diagnostikken forutsetter optimale metoder for å påvise og identifiserte aktuelle agens, eventuelt også påvisning av virulensmarkører som verifiserer den etiologiske betydningen.

Den *epidemiologiske* overvåkingen forutsetter en systematisk innsamling av samtlige isolater av de(t) aktuelle agens og, ved mistanke om utbrudd, muligheter for å kunne undersøke med henblikk på et panel av epidemiologiske markører for å be- eller avkrefte en eventuell identitet mellom stammene.

### 1. Påvisning.

Det har aldri eksistert en *formell* referansefunksjon for påvisning av enteropatogene mikrober. I perioden hvor Avdeling for bakteriologi/Folkehelse hadde en større rutinediagnostikk, oppfattet likevel denne avdelingen at den hadde en *uformell* referansefunksjon på dette området med krav til å:

- (i) Følge med i internasjonal litteratur vedrørende mulige nye etiologier for bakterielle diareesykdommer og gjennomføre undersøkelser med henblikk på eventuell aktualitet i Norge (f.eks. *Yersinia enterocolitica* i 70-årene og *Campylobacter* og *Cl.difficile* i 80-årene, hvor det viste seg at vi har aktuelle problemer og følgelig krav til en tilsvarende bakteriologisk diagnostikk, ETEC og *V.parahaemolyticus* (også i 80-årene) hvor det viste seg at vi *ikke* har noen aktuelle problemer og følgelig heller ikke noe krav til rutinediagnostikk eller *Aeromonas/Plesiomonas* hvor vi for såvidt ikke har rukket å trekke noen konklusjon).
- (ii) Følge med i internasjonal litteratur vedrørende nye medier og metoder for påvisning av aktuelle agens, gjennomføre nødvendige sammenlignende undersøkelser, eventuelt foreta nødvendige modifikasjoner samt gi ut informasjon/anbefalinger om diagnostiske metoder i denne sammenhengen.

Etter at avdelingen mistet det meste og etter hvert all primærdiagnostikk, er også disse "selvpålagte" referanseoppgavene falt bort. Fordi de var uformelle, har det heller ikke vært et *krav* om at andre laboratorier skulle overta dem.

Det finnes pr i dag derfor ingen referansefunksjon på dette området og det er siden det første konsensusmøtet i 1987, som omhandlet bakteriologisk fæcesdiagnostikk, ikke gitt ut nye eller reviderte anbefalinger om slik diagnostikk.

### 2. Identifikasjon.

Referansefunksjoner for identifikasjon av enteropatogene mikrober er pr i dag samlet ved Avdeling for bakteriologi/Folkehelse. Følgende funksjoner finnes:

**Tabell 1. Aktuelle referansefunksjoner for enteropatogene mikrober, Folkehelse**

| Agens                                               | Innsending                                                                     | Diagnostikk                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|-----------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Salmonella                                          | Systematisk fra<br>- mennesker<br>- dyr<br>- næringsmidler<br>- før<br>- miljø | Verifiserende identifikasjon til genusnivå med /biokjemi og PCR-diagnostikk<br>Verifiserende identifikasjon til serovar.nivå med serologi<br>Epidemiologiske markører:<br>- fenotypi<br>- serologi<br>- biokjemi<br>- fagtyping (S.Typhi/ S.Paratyphi B/ S.Enteritidis/ S.Typhimurium/ event. andre med egenutviklet metodikk<br>- genotypi<br>- plasmid<br>- (restriksjonsenzymanalyse)<br>- (ribotyping)<br>- (pulsfeltgelektroforese) |
| Shigella                                            | Systematisk fra<br>- mennesker                                                 | Verifiserende identifikasjon til<br>- speciesnivå (Sh.flexneri)<br>- serotypenivå (Sh.dys./Sh.boydii/ Sh.sonn.)<br>Epidemiologiske markører<br>- (colicintyping: Sh.sonnei)<br>- genotypi (?)<br>Virulensmarkør<br>- Invasivitet: Sereny (PCR)                                                                                                                                                                                           |
| Yersinia enterocolitica                             | Tilnærmet systematisk fra<br>- mennesker<br>- dyr ?                            | Verifiserende identifikasjon til<br>- sero- og biotypenivå<br>Virulensmarkører<br>- AA/ biokjemi/ kongorødt<br>- PCR/ REAC/ REAP                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| Campylobacter                                       | Tilfeldig                                                                      | Verifiserende identifikasjon til<br>- species- og biotypenivå                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| E.coli <sup>1</sup><br>EPEC<br>ETEC<br>EIEC<br>EHEC | Tilfeldig<br>Tilfeldig<br>Systematisk<br>Systematisk                           | Verifiserende identifikasjon til<br>- serogruppenivå<br>Virulensmarkør<br>- lt-toksinpåvisning (ELISA)<br>Virulensmarkør: - invasivitet: PCR (Sereny)<br>Identifikasjon av O:157 H:7<br>Virulensmarkør: - VERO-toksin<br>- PCR                                                                                                                                                                                                           |
| Cl.difficile                                        | Tilfeldig                                                                      | Verifiserende identifikasjon<br>Virulensmarkører: toksin A (EIA)<br>+ toksin B (celletest)<br>Epidemiologiske markører:<br>- res.mønster                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Aeromonas/<br>Plesiomonas                           | Tilfeldig                                                                      | Verifiserende identifikasjon Virulensmarkør: - lt-toksin                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Vibrio                                              | Systematisk                                                                    | Verifiserende identifikasjon til<br>- speciesnivå<br>- serotypenivå for V.chol. O:1 og O:139<br>Virulensmarkør: -enterotoksin (ELISA)                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |

<sup>1</sup> Se fotnote på s. 4, Del 3 – Endringer, og Del 4 – Vedlegg: Begrunnelse for endring i diagnostikk av tarmpatogene *E. coli*

Av disse referansefunksjonene tjener særlig funksjonene vedrørende *Salmonella* og *Shigella* den nasjonale, epidemiologiske overvåkingen og er derfor pr i dag de eneste som de mikrobiologiske laboratoriene skal anvende.

Fordi det også i realiteten er etablert en tilsvarende overvåking for *Yersinia enterocolitica*, bør også denne funksjonen brukes.

Det samme gjelder *sjeldne*, men *alvorlige* infeksjoner som EHEC og *V.cholerae*.

De øvrige funksjonene tjener først og fremst den individuelle pasientdiagnostikken og er derfor frivillige for brukerne.

*Referansefunksjoner som pr idag ikke er tilfredsstillende:*

- *Campylobacter*: manglende typingsmuligheter og markørundersøkelser. Serotyping er forsøkt etablert, men har vist seg å være for lite reproducerbar. Bør utvikle genotypiske markører.
- ETEC: både Lt- og St-toksinet bør påvises. Problemet med ETEC er imidlertid så lite at utviklingen av denne diagnostikken ikke behøver å prioriteres.
- EPEC: serogruppediagnostikk er ikke tilfredsstillende. Det bør foreligge en *serotype*-diagnostikk. Problemet kan sannsynligvis løses i nær fremtid med genteknologiske metoder.
- *Cl.difficile*: resistensmønsteret som epidemiologisk markør vil sannsynligvis ofte ikke være tilstrekkelig. Det har vært lite behov for slike undersøkelser foreløpig, men vil sannsynligvis etter hvert bli merkbart større.
- *Aeromonas/Plesiomonas*: deres plass som etiologisk agens er usikker, diagnostikken tilfeldig, virulenspåvisning ved Lt-toksin alene sannsynligvis utilstrekkelig.

*Referansefunksjoner som mangler helt:*

- Isolering av agens - metoder og medier.
- Parasittologi

*Krav til rekvirent:*

- Forsendelse:  
Kulturer kan sendes på: stikkagar/ Stuarts medium, men *ikke* på agarskåler  
De fleste stammer skal sendes som *renkulturer*. Når det gjelder EPEC og EHEC skal disse *ikke* sendes som renkulturer, men som strøk (fordi det ofte bare et forsvinnende lite antall av de tilstedeværende E.coli-koloniene som tilhører patogene grupper).  
Innsending av fæces til påvisning av fritt VERO-toksin
- Informasjon:  
Det har ikke foreligget noen standardisert rekvisisjon for bruk ved innsending av stammer til referanseundersøkelser og informasjonen som medfølger har derfor vært relativt tilfeldig. For å sikre et standardisert sett av informasjon som kan vise seg viktige i den epidemiologiske overvåkingen, anbefales at vedlagte forslag til skjema brukes.

***Rekvisisjon - Referanselaboratoriet for enteropatogene mikrober/Folkehelse***

**Innsender:**

Laboratorium: \_\_\_\_\_ Kundenr.: \_\_\_\_\_

Adresse: \_\_\_\_\_

Postnr. \_\_\_\_\_ Poststed: \_\_\_\_\_ Telefon: \_\_\_\_\_

Telefax: \_\_\_\_\_

**Pasienten**

Navn: \_\_\_\_\_ Fødselsnr.: \_\_\_\_\_

Adresse: Postnr. \_\_\_\_\_ Poststed: \_\_\_\_\_

Kjønn: M/K: \_\_\_\_\_ Etnisitet: N(orsk) \_\_\_\_\_ I(-land) \_\_\_\_\_ U(-land) \_\_\_\_\_

Poliklinisk \_\_\_\_\_ Inneliggende på \_\_\_\_\_ sykehus

Klinisk diagnose: \_\_\_\_\_ 1.sykdomsdag \_\_\_\_\_

Er antatt smittested: Norge: \_\_\_\_\_ Utlandet (hvilket) \_\_\_\_\_

Er kulturen isolert i forbindelse med et utbrudd (evt. kommentarer): \_\_\_\_\_

**Mikroben**

Innsenders j.nr.: \_\_\_\_\_ Prøvemateriale: \_\_\_\_\_ Prøve tatt den: \_\_\_\_\_

Tentativ identifikasjon: \_\_\_\_\_

Evt. kommentarer: \_\_\_\_\_

Dato: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Underskrift

## **2.14 Sikkerhetsnivåer ved fæcesdiagnostikk i norske medisinsk mikrobiologiske laboratorier**

Geir Bukholm og Berit Hovig, Mikrobiologisk institutt, Rikshospitalet

Eksisterende lover og avtaler som regulerer krav til sikkerhetsnivå ved arbeid med mikroorganismer i norske mikrobiologiske laboratorier:

- I. Lov av 4. februar 1977 nr 4 om arbeidervern og arbeidsmiljø (arbeidsmiljøloven)
  - A. Forslag til «Forskrift om vern av arbeidstakerne mot farer ved arbeid med biologiske faktorer», datert februar 1996
- II. EØS-avtalen kap I nr. 15 (Rådsdirektiv 90/679/EØF)
  - A. Endring av EØS-avtalen ved EØS-komiteéns beslutning nr 7/94 (Rådsdirektiv 93/88/EØF som endrer direktiv 90/679/EØF)
- III. Lov av 2. april 1993 nr 38 om framstilling og bruk av genmodifiserte organismer (genteknologiloven)
  - A. Forskrift om sikkerhetstiltak, klassifisering og protokollføring ved laboratorier og anlegg for innesluttet bruk av 1.. februar 1994.
- IV. Europeisk standard gitt av den Europeiske komité for standardisering (CEN), forslag til standard prEN 12128 (document CEN/TC233/N254, oktober 1996): Containment levels of microbiology laboratories, areas of risk, localities and physical safety requirements

### **2.14.1 Arbeidsmiljølovens bestemmelser**

Med hjemmel i arbeidsmiljøloven har Kommunal og Arbeidsdepartementet utarbeidet et forslag til forskrift. De mest aktuelle paragrafene i forskriften er §24 som er en klassifisering mikroorganismer og §22 som gir retningslinjer for bygningsmessige og prosedyremessige forhold i forbindelse med arbeid med mikroorganismer.

### 2.14.1.1 Klassifisering av mikroorganismer

Tabell 1. Liste over de viktigste «fekale mikrober» som er omhandlet i §24 til Forskrift om vern av arbeidstakerne mot farer ved arbeid med biologiske faktorer. Listen er ajourført pr 13.02.96.

| Mikrober                                   | Klasse | Merknad                                    |
|--------------------------------------------|--------|--------------------------------------------|
| <i>Campylobacter fetus</i>                 | 2      |                                            |
| <i>Campylobacter jejuni</i>                | 2      |                                            |
| <i>Campylobacter spp.</i>                  | 2      |                                            |
| <i>Escherichia coli</i>                    | 2      |                                            |
| <i>Plesiomonas shigelloides</i>            | 2      |                                            |
| <i>Salmonella arizonae</i>                 | 2      |                                            |
| <i>Salmonella enteritidis</i>              | 2      |                                            |
| <i>Salmonella typhimurium</i>              | 2      |                                            |
| <i>Salmonella paratyphi A,B,C</i>          | 2      |                                            |
| <i>Salmonella typhi</i>                    | 3      | <b>Smitter normalt ikke gjennom luften</b> |
| <i>Salmonella</i> (andre serotyper)        | 2      |                                            |
| <i>Shigella boydii</i>                     | 2      |                                            |
| <i>Shigella dysenteriae</i> (Type 1)       | 3      | <b>Smitter normalt ikke gjennom luften</b> |
| <i>Shigella flexneri</i>                   | 2      |                                            |
| <i>Shigella sonnei</i>                     | 2      |                                            |
| <i>Vibrio cholerae</i> (herunder «El Tor») | 2      |                                            |
| <i>Vibrio parahaemolyticus</i>             | 2      |                                            |
| <i>Vibrio spp.</i>                         | 2      |                                            |
| <i>Yersinia enterocolitica</i>             | 2      |                                            |

Som det fremgår av tabell 1 er to av de aktuelle mikrobene klassifisert i klasse 3, *Shigella dysenteriae* og *Salmonella typhi*, begge med merknaden «smitter normalt ikke gjennom luften».

### 2.14.1.2 Bygningmessige og prosedyremessige forhold

I forslaget § 16 beskrives 3 nivåer for inneslutning av biologiske faktorer, beskrevet med tall (2,3 og 4) relatert til aktiviteter forbundet med biologiske faktorer i de samme grupper. I forskriftforslaget § 22 defineres de inneslutningstiltak som er aktuelle for hvert enkelt inneslutningsnivå. Vi antar at alle landets medisinsk-mikrobiologiske laboratorier tilfredsstiller kravene til nivå 2. Siden ingen av de aktuelle mikrober klassifiseres i klasse 4, vil kravene til inneslutningsnivå 3 være dem som det vil være viktig å forholde seg til.

Tabell 2. Bygningmessige krav til laboratorium av inneslutningsnivå 3

| Stikkord            | Forskriftens krav eller anbefaling                                                      |
|---------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| separat rom         | arbeidslokalene <i>anbefales</i> adskilt fra enhver annen aktivitet i samme bygning     |
| luftfilter          | utluften <i>skal</i> filtreres ved hjelp av absolutte filtre                            |
| desinfeksjon        | <i>anbefalt</i> avstengningsmekanisme som muliggjør desinfeksjon                        |
| undertrykk          | <i>anbefalt</i> undertrykk på arbeidsplassen                                            |
| arbeidsbenk og gulv | overflater skal være vanntette og lette å rengjøre                                      |
| overflater          | overflater <i>skal</i> tåle syrer, alkaliske stoffer, løsemidler og desinfeksjonsmidler |
| observasjonsvindu   | <i>anbefalt</i>                                                                         |
| forbrenningsanlegg  | skal være tilgjengelig for destruksjon av dyrelik                                       |

Tabell 3. Prosedyremessige krav til inneslutningsnivå 3

| Stikkord                 | Forskriftens krav eller anbefaling                                                                     |
|--------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| adgangskontroll          | <i>bare</i> utpekte arbeidstakere skal ha adgang                                                       |
| desinfeksjons-prosedyrer | skal spesifiseres                                                                                      |
| smittebærerkontroll      | effektiv kontroll av smittebærere, f.eks. gnagere og insekter                                          |
| lagring                  | biologiske faktorer <i>skal</i> oppbevares på et sikkert sted                                          |
| utstyr                   | komplett utstyr i hvert laboratorium <i>anbefales</i>                                                  |
| sikkerhetskabinett       | håndtering av infisert materiale <i>skal</i> foregå i sikkerhetsrom dersom smitte spres gjennom luften |

### 2.14.1.3 Konklusjon - arbeidsmiljølovens bestemmelser

Det er ikke enkelt å lese ut av de ovennevnte kravene noe entydig om hvordan et laboratorium som tilfredsstiller inneslutningsnivå 3 bør være bygget og utstyrt og hvilke prosedyrer som bør følges. Det er også nødvendig å definere hvilke av laboratoriets undersøkelsesrutiner som bør/skal utføres i et nivå 3 laboratorium. To mikrobearter/typer som kan være tilstede i fæces, men som er relativt sjelden isolert (*Salmonella typhi* og *Shigella dysenteriae*), er klassifisert i klasse 3. Spørsmål som ennå ikke er avklart er hvorvidt dette innebærer at kravet om inneslutningsnivå 3 bør gjelde all fæcesdiagnostikk eller om man kan differensiere, avhengig av relativ risiko for påvisning av patogener i klasse 3. Videre om man bør skjelne mellom håndtering av prøvemateriale og oppformert materiale, og om man kan tillate seg å blande aktiviteter i et nivå 3 laboratorium, f.eks. feces-diagnostikk og TB-diagnostikk. Henvendelser til Arbeidstilsynet har ikke gitt noen avklaring på slike spørsmål.

### 2.14.2 Genteknologilovens bestemmelser

Genteknologiloven har forskrifter som baserer seg på de samme kildemateriale fra EØS som arbeidsmiljølovens forskrifter. Listen over mikroorganismer er identisk for de aktuelle mikrober, med det unntak at genteknologilovens forskrifter ikke skjelner mellom mikrober av klasse 3 som smitter gjennom luft og de som ikke antas å gjøre det. Når det gjelder bygningmessige og prosedyremessige forhold gir heller ikke genteknologiens forskrifter opplysninger som er spesielt klargjørende i forhold til de bestemmelser som er gitt i arbeidsmiljølovens forskrifter.

### 2.14.3 Europeisk standard - CEN

I forslag fra CEN om krav til mikrobiologiske laboratorier av oktober 1996 opererer man med en europeisk standard til «Physical Containment Level» (PCL) 1, 2, 3 og 4. Disse nivåer er ikke helt sammenfallende med hva forskriftene til arbeidsmiljøloven og genteknologiloven definerer. I tabell 4 gis et utdrag av forslaget fra CEN, slik det er gjengitt i final draft- prEN 12128:september 1996.

Tabell 4. Krav til PCL 3 laboratorier i henhold til europeisk standard

|                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|--------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Separat rom</b>       | <ul style="list-style-type: none"><li>• adskilt med låsbar dør</li><li>• observasjonsvindu</li><li>• laboratoriet (inkludert ventilasjonssystemet) må kunne forsegles for gassdesinfeksjon</li></ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>Arealkrav</b>         | <ul style="list-style-type: none"><li>• tilstrekkelig arbeidsplass for hver arbeider</li></ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <b>Innredningskrav</b>   | <ul style="list-style-type: none"><li>• håndvaskfasiliteter</li><li>• kraner som kan benyttes uten å anvende hender</li><li>• lagerrom for beskyttelsesklær</li><li>• sikkerhetskabinett (krav: prEN 12469)</li><li>• tette benkeoverflater, skal tåle rengjøring og desinfeksjon</li><li>• effektiv kontroll av vektorer (insekter, gangere ol.)</li><li>• autoklave må finnes innenfor laboratorieenheten</li><li>• utløpsvann skal desinifiseres</li><li>• laboratoriet skal ha sitt eget utstyr som oppfyller kravene til europeisk eller internasjonal standard</li></ul> |
| <b>Ventilasjon</b>       | <ul style="list-style-type: none"><li>• negativt lufttrykk inne i laboratoriet</li><li>• all luft ut av laboratoriet skal filtreres i HEPA-filter</li><li>• alarmsystem som oppdager endringer i lufttrykk</li></ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>Arbeidsprosedyrer</b> | <ul style="list-style-type: none"><li>• det skal benyttes hånddesinfeksjon</li><li>• avfallsrutinene må være validerte</li></ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |

### 2.14.4 Sammenfatning og problemer

Det finnes en rekke nasjonale og internasjonale bestemmelser som regulerer krav til sikkerhetsnivå ved fæcesdiagnostikk i norske mikrobiologiske laboratorier. Definisjon av prosedyrer og bygningsmessige forhold er ikke like godt definert i alle disse sett av bestemmelser.

Sålenge arbeidsmiljømyndighetene ikke utarbeider veiledning til de aktuelle forskrifter, synes det som om de fagansvarlige personer på hvert laboratorium selv må forsøke å definere hvordan arbeidsmiljøkravene kan ivaretas. Tidspunktet er derfor neppe inne for å sette opp noen endelig konsensus for hvordan faecesdiagnostikken på de mikrobiologiske laboratorier skal foregå.

I tidligere retningslinjer utarbeidet av en arbeidsgruppe oppnevnt av Norsk forening for mikrobiologi (oktober 1989) ble faecesdiagnostikken forutsatt utført i det generelle bakteriologiske laboratoriet (svarende til inneslutningsnivå 2). Arbeid med tarmpatogene bakterier ble anbefalt utført i sikkerhetskabinett og dette ble på grunn av den lave infeksjonsdosen ansett å være spesielt viktig for *Salmonella typhi* og *Shigella*. Alt viderearbeid med bakterier som inneholdt agens i klasse 3 ble ansett å skulle utføres i sikkerhetskabinett.

De nye retningslinjene gir ikke klart svar på hvordan laboratoriene skal innredes og i enda mindre grad, svar på hvilke prosedyrer som skal foregå der.

Hvorvidt de nye krav tilsier at det innredes egne faeceslaboratorier er usikkert. Dette kan lett etableres ved nybygging, men er selvsagt vanskeligere å etablere i gamle lokaler.

Hvilke typer prosedyrer skal foregå i laboratoriet? Må all utsæd av prøver kan inneholde agens i klasse 3 sås ut i et klasse 3 laboratorium? Kan laboratoriekravene til prøver som skal sås ut og til kulturer med oppformerte mikrober adskilles? Kan det foregå arbeid med forskjellige klasse 3 agens i et og samme klasse 3-laboratorium (f.eks. enteropatogener og mykobakterier). Også i denne sammenheng vil svaret kunne være avhengig av om det dreier seg om nybygg eller om rutinene i et allerede etablert laboratorium.

### 3. ENDRINGER 2011

| Dato for endring | Gjelder side         | Tema                                      |
|------------------|----------------------|-------------------------------------------|
| 01.05.2011       | 4, 5, 33, 37, 39, 80 | Undersøkelse med henblikk på EHEC og EPEC |

#### 3.1 Praktisk-kliniske definisjoner:

- **EHEC** = Enterohemorragiske *E. coli* (EHEC) er shigatoksinproduserende *E. coli*.
- **EHEC-LST** = *eae*-positive *E. coli* som kan være EHEC som har mistet sine shigatoksiner. Dette er de atypiske EPEC som ut fra klinisk, mikrobiologiske og epidemiologisk begrunnelse kan sannsynliggjøres at representerer EHEC som har mistet sine bakteriofag-kodete *stx*-gener.
- **aEPEC** = atypiske EPEC, det vil si de *eae*-positive *E. coli* som ut fra en totalvurdering av klinikk, mikrobiologiske funn og manglende epidemiologisk link til EHEC-tilfelle, samt manglende funn av *bfp*, kan sannsynliggjøres at er en "sann" aEPEC.

#### 3.2 Indikasjoner for undersøkelse på EHEC og EPEC som kan være EHEC-LST

##### 3.2.1 Ved kliniske symptomer

Revisjonen i 2007 oppgir at det optimale er å utføre undersøkelse på EHEC på alle "diaré-prøver". Prioriteringsmessig er dette vanskelig gjennomførbart, og indikasjonene den gangen oppført under "Alternativt" må anses å være det optimale:

A) Sterk anbefaling\* (basert på god vitenskapelig dokumentasjon som har støtte i norsk epidemiologi og erfaring)

- **Klinisk HUS**, mulig eller sannsynlig; alle aldre
- **Blodig diaré**; alle aldre
- **Diaré hos barn under skolealder**

B) Moderat anbefaling\* (basert på utenlandske studier med sannsynlig relevans for norske forhold):

- Sannsynlig **infeksjonsutløst diaré hos**
  - sykehjemspasienter (dokumentert økt risiko for død ved EHEC-infeksjon)
  - sterkt immunosupprimerte (dokumentert økt mottakelighet for smitte fra mat)
  - personer i smitterisikogruppe 1 (personer i næringsmiddelvirksomhet eller som håndterer mat som skal serveres rå eller uten ytterligere oppvarming, inklusive barnehageansatte som håndterer mat) (dokumentert økt risiko for smittespredning via mat)

C) Svak anbefaling\* (basert på risikovurdering)

- Sannsynlig **infeksjonsutløst diaré hos**
  - personer som kan ha vært utsatt for laboratorieassosiert smitte med EHEC
  - personer som har hatt kontakt med drøvtyggere (eks. bønder, veterinærer)

\* I henhold til Helsedirektoratets "Retningslinjer for retningslinjer" (IS 2653, fra 2002) foreslås at anbefalingers styrke angis i "sterk", "moderat" eller "svak". Dette handler om den vurderingen av kvaliteten og relevansen på den vitenskapelige dokumentasjonen og ikke om hvor sterkt ønsket er om at praksisen skal etterfølges.

### 3.2.2 Ved smitteoppsporing (rundt et EHEC-tilfelle, utbrudd)

I en setting med smitteoppsporing er det smittevernlegen sitt ansvar å foreta en totalvurdering hvor ”hardt man skal gå ut” i henhold til smittens potensielle omfang og setting, samt alvorlighetsgrad hos de allerede smittede.

- Ved oppsporing rundt et foreløpig **enkelttilfelle**, er det indikasjon (fra laboratoriet sitt ståsted) for å undersøke feces (uavhengig om diaré eller ikke) hos personer som oppgis å ha epidemiologisk link til tilfellet.
- Ved oppsporing i et **begrenset utbrudd**, for eksempel i en barnehage eller et sykehjem, vil indikasjonen fortsatt være epidemiologisk link til et tilfelle i utbruddet
- Ved et **nasjonalt utbrudd**
  - a. hovedregelen bør fortsatt være epidemiologisk link
  - b. ved svært alvorlig nasjonalt utbrudd, kan i tillegg ”flat-screening” av alle med diaré gjennomføres i en begrenset tidsperiode. Dette siste må anses å være en mikrobiologisk ”unntakstilstand”. En slik avgjørelse bør tas sentralt, etter nøye vurdering av risiko ved sannsynlig nødvendig nedprioritering av annen mikrobiologisk diagnostikk

## 3.3 Laboratoriediagnostikk av EHEC og ”EPEC som kan være EHEC-LST”

### 3.3.1 Ved klinisk indikasjon (syk pasient)

a) **Markørmedium for O157:H7** (sorbitolmedium eller chromagar) kombinert med agglutinasjon av sorbitol-negative kolonier/”andre *E. coli*” fra chromagar med O157 antiserum.

Kommentar: Denne metoden bør opprettholdes av alle laboratorier med tanke på en så rask og enkel påvisning som mulig av den hyppigst forekommende EHEC-varianten. Dekker pr i dag sannsynligvis ca. 1/3 av alle EHEC-infeksjoner i Norge.

b) **PCR for genene *stx1*, *stx2* og *eae* (blandingskultur fra dyrkningsskål eller buljong eller ekstrahert fæces)**. Hvis positiv på *stx*, utføres renspredding av flere *E. coli* kolonier til nye PCR. Positive stammer agglutineres med **monovalente antisera mot ”de 6 store” (O26, O103, O111, O121, O145 og O157)**. PCR positiv(e) stamme(r) sendes Referanselaboratoriet (selv om eventuelt negativ agglutinerings).

Ved alvorlig klinikk (HUS eller blodig diaré) og:

- det ikke lykkes å isolere *stx*-positiv stamme, sendes strøk med ca 10-20 *E. coli* kolonier til Referanselaboratoriet.
- det kun påvises *eae*, og:
  - klinikken er HUS eller blodig diaré hos pasient som har økt risiko for HUS (barn i førskolealder) eller død ved EHEC-infeksjon (sykehjemspasienter), gjøres renspredding og forsøk på agglutinerings, samt sending til Referanselaboratoriet. Prøven svares foreløpig ut som for eksempel ”mulig EHEC-LST, videresendes for tilleggsundersøkelser”. Hvis renspredding ikke lar seg gjøre, sendes strøk med 10-20 *E. coli* kolonier til Referanselaboratoriet.
  - klinikken er blodig diaré hos andre pasienter enn dem nevnt over, og ikke annen mer sannsynlig agens påvises (husk likevel mulighet for dobbeltinfeksjon), forsøkes stammen isolert, agglutinert og sendt, og svares ut foreløpig med ”sannsynlig aEPEC, men stammen videresendes for tilleggsundersøkelser”. Hvis stammen ikke lar seg isolere, avsluttes undersøkelsen og prøven svares ut som negativ med hensyn på EHEC.

Ved mindre alvorlig klinikk og det kun påvises *eae*, se kapittel 3.4 (Lab-diagnostikk av EPEC).

**alternativt:**

**Toksintest etter anrikning av fæces i buljong.** Hvis positiv, så ut buljong på skål og spre enkeltkolonier. Repeter toksintest på enkeltkolonier. Positiv koloni agglutineres med antiserum mot ”de 6 store”. Toksin-positiv stamme sendes FHI som over. Ved alvorlig klinikk og negativ toksintest videresendes strøk fra buljong til laboratorium som har PCR-metodikk for *eae*- og *stx* genpåvisning.

c) **Hvis verken PCR eller toksintest utføres**, videresendes prøven til annet laboratorium som har etablert PCR-analyse på både *stx* og *eae*.

### 3.3.2 Ved smitteoppsporing (friske bærere) rundt enkeltkasus og ved utbrudd

Dette gjelder for smitteoppsporing rundt enkeltkasus (kjent EHEC eller EHEC-LST eller HUS-tilfelle uten funn av EHEC) og ved erkjent lokalt eller nasjonalt utbrudd med kjent stamme. Den mikrobiologiske diagnostikken utføres i prinsippet på samme måte som beskrevet over, **men med et par tilleggsråd:**

1. I prøver med funn av *eae* uten *stx* bør man forsøke å isolere *eae*-positiv stamme og sjekke om den har samme serogruppe som stammen i utbruddet/EHEC-tilfellet. Hvis *eae*-positiv stamme agglutinerer i samme serogruppe, bør det gå ut foreløpig svar om ”mulig EHEC-LST, videresendes for tilleggsundersøkelser”, hvis ikke, svares det endelig ut som aEPEC (se under). Hvis samme antiserum (som EHEC-utbrudd/tilfelle med EHEC) ikke er tilgjengelig, bør det foreløpige svaret til rekvirent være for eksempel ”sannsynlig aEPEC, men videresendes for tilleggsundersøkelser”, og stammen sendes. Kun i helt spesielle tilfeller (for eksempel smitteoppsporing rundt kasus med *svært* alvorlig klinikk) hvor *eae*-positiv stamme ikke lar seg isolere, kan blandingskultur av 10-20 *E. coli* sendes Referanselaboratoriet.
2. For laboratorier som ikke har PCR-metodikk for *eae*- og *stx* genpåvisning videresendes prøver (evt. blandingskultur) til laboratorium som har slik diagnostikk.
3. Ved alvorlig utbrudd med EHEC som tilhører en O-serogruppe som ikke er en av ”de 6 store”, bør laboratoriene vurdere raskt å skaffe seg antiserum mot den aktuelle O-serogruppen. Dette for raskere å kunne identifisere tilfeller til selve utbruddsetterforskningen (viktig med kort tidsintervall når det gjøres intervju om inntatte matvarer – som er en massiv innsats vanligvis fra ansatte i Mattilsynet, og som kan representere en stor belastning for den som intervjues).

### 3.4 Indikasjoner for undersøkelse av EPEC (*eae*-positive *E. coli*)

#### 3.4.1 aEPEC

Indikasjoner: Kronisk diaré hos små barn eller utbrudd blant små barn (barnehage eller barneavdeling ved sykehus) når ikke funn av annen mer sannsynlig infeksjons årsak (= utelukkelsesdiagnose).

#### 3.4.2 tEPEC

Indikasjon: diaré hos små barn etter reise til utviklingsland når ikke funn av annen mer sannsynlig infeksjons årsak.

### 3.5 Lab-diagnostikk av EPEC (*eae*-positive *E. coli*)

Primærdiagnostikk av både aEPEC og tEPEC baseres på PCR-undersøkelse med hensyn på *eae*. Enkelte laboratorier har i tillegg etablert PCR-diagnostikk for å skille ut tEPEC, men dette er ikke høyt prioritert diagnostikk siden forekomsten av tEPEC i Norge anses å være lav. Spekteret av virulens mellom ”aEPEC som kan representere normalflora”, via aEPEC som kan være årsak til ikke-blodig diaré, til EHEC som har tapt *stx*-gener (EHEC-LST), samt tEPEC, gir et betydelig tolkningsproblem. Vurderingen av et funn av *eae* uten samtidig funn av *stx* må baseres på en mikrobiologisk totalvurdering av klinikk (HUS, blodig diaré, ublodig diaré, ingen symptomer), om funnet kan være del av et utbrudd (EHEC, tEPEC, aEPEC), samt serologisk og eventuell genotypisk karakterisering av stammen:

1. **Ved funn av *eae* i avføringsprøve hos små barn med langvarig diare, hos små barn etter opphold i U-land, eller ved utbrudd i barnehage eller barneavdeling uten annen mer sannsynlig årsak**, gjøres forsøk på renspreddning. Ved funn av *eae*-positiv *E. coli* i renkultur, besvares funnet som EPEC med kommentaren ”mulig årsak til akutt og langvarig diaré hos små barn”, og isolatet sendes Referanselaboratoriet for videre karakterisering. Alternativt kan man lokalt gjøre *bfpA*-PCR for å skille mellom aEPEC og tEPEC før besvaring og sending til Referanselaboratoriet.  
tEPEC og aEPEC ved langvarig diaré (sannsynligvis hos ett og ett barn av gangen) meldes nominativt til MSIS, mens utbrudd av aEPEC kun går som varsel til Vesuv.
2. **Ved HUS eller blodig diaré uten funn av annet mer sannsynlig mikrobiologisk agens bør stammen håndteres som EHEC-LST** (se pkt 3.2.1).
3. **Ved pågående lokalt eller nasjonalt EHEC-utbrudd eller ved smitteoppsporing rundt et EHEC-tilfelle**, se pkt 3.2.2.
4. **Ved funn av *eae* i avføringsprøve i andre situasjoner enn beskrevet i punktene 1-3**, kan undersøkelsen avsluttes uten forsøk på isolasjon av *eae*-positiv stamme. Besvares med for eksempel: ”funn av intimin-gen (*eae*) i blandingskultur, representerer sannsynligvis atypiske enteropatogene *E. coli* (aEPEC) som kan gi mild, vanligvis forbigående diaré. Kan hos enkelte gi mer langvarige plager”, og EHEC-undersøkelsen svares ut som negativ. Ingen melding til MSIS eller sending til Referanselaboratoriet.

### 3.6 Indikasjoner for og påvisning av EAEC

Dokumentasjonen for at EAEC er en reell diaré-patogen anses tilstrekkelig til at PCR-basert primærdiagnostikk av EAEC anbefales etablert ved enkelte laboratorier.

Viktigste kliniske indikasjoner:

- **Vedvarande diare (> 14d)**, særleg hos personar som kjem frå utviklingsregionar (t.d. flyktningar og innvandrarar), dersom ein ikkje påviser annan årsak til vedvarande diare
- **Malabsorbsjon hos barn (< 2 år)**, særleg barn frå utviklingsland, der annan årsak til dette ikkje blir påvist
- **Utbrotssopplaring** ved utgreiing av mistenkt næringsmiddelassosiert sjukdomsutbrot utan funn av anna agens

## 4. Vedlegg: Begrunnelse for endringer i diagnostikk av tarmpatogene *E. coli* i forhold til strategirapport 1996 med endringer i 2007

---

### 4.1 Innledning/bakgrunn

Mandat fra møtet i Referansegruppen for Ringtester 01.02.10:

*”Erfaringene fra EHEC utbrudd 2006/2009, samt økt kunnskap om ikke-absolutte grenser mellom normalflora og atypiske EPEC på den ene siden, og mellom atypiske EPEC og EHEC på den andre siden, befordre ny vurdering av relevante og praktisk gjennomførbare indikasjoner for *E. coli* diagnostikk, og for hvordan denne diagnostikken mest hensiktsmessig bør utføres. Gruppen anbefaler at det ikke er behov for full gjennomgang av strategirapporten men at søkelyset rettes mot tarmpatogene *E. coli*. Det foreslås at referanselaboratoriet setter ned en ekspertgruppe som kan gå gjennom problemkomplekset og komme med en statusrapport til høstmøtet i referansegruppen. Rapporten vil til slutt kunne innlemmes i eksisterende strategirapport.”*

Det er de siste årene kommet betydelig økt kunnskap om ulike faktorer som er knyttet til alvorlighetsgrad av sykdom med EHEC og de andre tarmpatogene *E. coli*. Undergrupperingen i enterohemorragisk *E. coli* (EHEC), enteropatogene *E. coli* (EPEC), enteroinvasive *E. coli* (EIEC), enterotoksogene *E. coli* (ETEC) og enteroaggregative *E. coli* (EAEC) gjelder fortsatt.

Alvorlighetsgrad av klinikk er i tillegg assosiert til ulike virulensfaktorer og subtyper av virulensfaktorer, som til dels forekommer på tvers av undergruppene av tarmpatogene *E. coli*. Dette har endret de mikrobiologiske kriteriene for å vurdere en gitt *E. coli* stamme sin iboende ”farlighetsgrad”.

I tillegg til den økte kunnskapen om bakterienes egenskaper, er det diagnostiske repertoaret og strategier for å isolere *E. coli* i feces utviklet betydelig de siste årene. Ulike dyrkningsmedier er kommet til, med i denne sammenheng til dels ukjent diagnostisk nytte. Ved flere laboratorier er det dessuten etablert molekylærgenetiske analyser på sentrale genetiske markører for *E. coli* virulens.

Etter utbruddet med O103:H25 i 2006 (morrpølse) var ønsket at man skulle ”fange” et EHEC-utbrudd allerede mens pasientene var i diaré-fasen, og indikasjonsstillingen ble lagt an svært bredt. Laboratoriene har fulgt opp dette i ulik grad. I revisjonen fra 2007 fokuserte man i tillegg på viktigheten av å påvise EPEC, slik at også ”EPEC som kan være EHEC som har mistet sine shigatoksiner” (EHEC-LST) skulle kunne bli oppdaget. EPEC-infeksjon ble gjort meldingspliktig, og ”sende-pliktig”. Dette har vært opplevd som fullstendig uhåndterlig mengdemessig, og til dels meningsløst, siden EPEC har vist seg stort sett å være assosiert med mild diaré, og ses også hyppig hos friske personer (se under).

Svarene fra laboratoriene på EHEC-prøver sendt ut i ringtester, samt resultater fra kartleggingen av EHEC-diagnostikken i Norge i 2009, tyder på at denne diagnostikken gjennomføres svært ulikt. De fleste laboratoriene (eller laboratorier som primærlaboratoriene videresender til) ville nok ha fanget opp de fleste EHEC-tilfeller med alvorlig klinikk. Tilfeller med mild klinikk og asymptomatisk bærerskap ville sannsynligvis ha blitt fanget opp i svært ulik grad rundt i landet. I tillegg utføres denne diagnostikken med svært ulik hastighet. Dette siste er viktig for to ting: at man tidligst mulig kan oppdage et utbrudd (”real-time” overvåkning), og for en mest mulig effektiv utbruddsetterforskning (jo lenger tid det går fra sykdomsdebut til intervju om inntatte matvarer, jo dårligere datagrunnlag får man i den epidemiologisk-analystiske delen av utbruddsetterforskningen).

Kriterier som ble valgt som veiledende for gruppens diagnostiske prioriteringer:

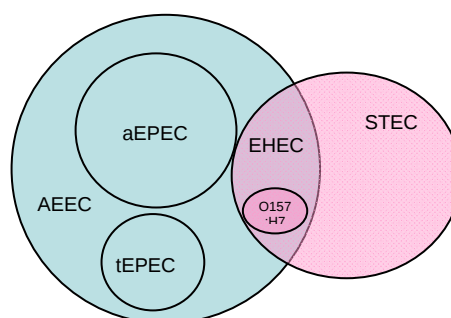
1. Laboratorieinnsats avpasset klinisk alvorlighetsgrad og smittevern hensyn
2. Forenklet logistikk
3. Kortere tid fra prøvetaking til mikrobiologisk diagnose

I det følgende har gruppen sammenfattet en kort oversikt over de gruppene av tarmpatogene *E. coli* hvor kunnskapen har forandret seg betydelig i løpet av de siste årene. Dette innbefatter ikke EIEC og ETEC, hvor både kunnskapen og indikasjonsstillingen ikke anses å være gjenstand for revisjon.

## 4.2 Enteropatogene *E. coli* (EPEC)

EPEC ble først oppdaget og senere diagnostisert og karakterisert ved hjelp av O/H-serotyping. En rekke ulike *E. coli* O-serogrupper og O:H-serotyper kunne assosieres epidemiologisk med diareesyndrom, og enkelte av disse ble definert som EPEC serogrupper eller klassiske EPEC serotyper (1). Senere er EPEC blitt definert ved bakteriens karakteristiske evne til å danne adheranse til tarmepitelceller, kalt "attaching and effacing" (A/E)-lesjoner, kodet av en rekke gener i "Locus of enterocyte effacement" (LEE). LEE-genet *eae* som koder for adheranseproteinet intimin er essensielt for bakteriens evne til å danne A/E-lesjoner. Typisk EPEC (tEPEC) er den opprinnelige varianten av EPEC som ble oppdaget ved serotyping og som har vært en viktig årsak til alvorlig diareesyndrom hos småbarn i U-land og utbrudd i barne-institusjoner (2). tEPEC er karakterisert ved å ha et virulensplasmid kalt "EPEC adherence factor" (EAF). Gener på EAF koder for bundle forming pili (BFP) som er essensielle for bakteriens evne til å danne lokalisert adheranse (LA) i cellekultur. Genet *bfpA* benyttes gjerne til diagnostikk av tEPEC.

*Eae* positive *E. coli* som verken har EAF eller shigatoksiner har vært omdiskutert både når det gjelder benevnelse og betydning som diareépatogene (3). Det har de senere årene blitt klart at slike bakterier er meget heterogene. Enkelte benytter betegnelsen "attaching and effacing" *E. coli* (AEEC) om gruppen av bakterier som ikke tilhører tradisjonelle EPEC serogrupper, og bruker begrepet atypiske EPEC (aEPEC) kun for *eae*-positive *E. coli* som tilhører EPEC serogrupper. I Norge har vi de siste årene benevnt alle *eae*-positive, *stx*- og *bfpA* negative *E. coli* som aEPEC. aEPEC finnes hyppig hos friske barn. I en norsk studie ble aEPEC funnet hos 10 % av friske barn < 5 år (4). Imidlertid ble det i den samme studien funnet at en subgruppe av aEPEC karakterisert med virulensgener tilhørende patogenisitetsoyene O122 (*efa1/lifA*, *nleB* og *nleE*) var assosiert med diareé (5). Ingen av barna hadde likevel så alvorlig diareesyndrom at de behøvde sykehusinnleggelse, men enkelte av dem hadde langvarig diareé. Betydningen av aEPEC med *efa1/lifA* er senere beskrevet i studier også fra andre land.



Figur 1. Relasjon mellom ulike *eae*-positive (blå) og *stx*-positive (rosa) *E. coli*.

I de senere årene er det blitt klart at aEPEC/ AEEC kan representere shigatoksinproduserende eller enterohemorragisk *E. coli* (STEC/ EHEC) som har tapt sine shigatoksin-gener (*stx1* og eller *stx2*). *Stx*-toksingenene er lokalisert på en profag som er integrert i bakteriekromosomet (lysogen fase), men som kan induseres og kuttes ut av kromosomet (lytisk fase) samtidig som bakterien gjerne ødelegges. I enkelte tilfeller tapes *stx*-genene fra bakterien uten at bakterien dør. I laboratoriet vil derfor i enkelte tilfeller *eae*-positive *E. coli* ikke representere AEEC/aEPEC, men STEC/EHEC som har tapt *stx*-genene, kalt "EHEC that lost shiga toxin" (EHEC-LST). Dette er sannsynliggjort i epidemiologiske studier hvor en har observert at aEPEC fra pasienter med blodig diareé hadde

karakteristika mer lik EHEC enn aEPEC fra personer med ublodig diaré (6). Det er også i utbruddssammenheng observert at *stx*-negative *E. coli*-isolater kan ha identisk genotype med epidemiologisk relaterte STEC/EHEC (7).

#### 4.2.1 Diagnostikk av EPEC

Diagnostikken av EPEC og EHEC-LST bør baseres på påvisning av patotypespesifikke gener som *eae*. O(:H)-serotyping kan være nyttig for vurdering om et isolat tilhører en EPEC O-serogruppe (aEPEC), en klassisk EPEC O:H serotype (tEPEC) eller ikke tilhører slike serogrupper (AEEC). Serologisk diagnostikk er ikke egnet til primær påvisning av EPEC i blandingskultur. AEEC som kan ha virulensegenskaper tilsvarende aEPEC vil ikke kunne påvises med EPEC antisera, og kun en liten andel av *E. coli* som tilhører EPEC-serogrupper er *eae*-positive. Siden genet *eae* kan finnes hos andre bakteriearter enn *E. coli* (oftest *Citrobacter spp*) er det ønskelig med identifikasjon av bakterestamme i renkultur for sikker identifikasjon av EPEC. Alternativt kan en ved funn av *eae* i blandingskultur besvare prøven som funn av intimin-gen (*eae*) i blandingskultur, representerer sannsynligvis enteropatogene *E. coli* (EPEC). Ved klinisk mistanke om EHEC (HUS, blodig diare, epidemiologisk relatert til EHEC-utbrudd), se under EHEC-kapittelet under) bør en ved funn av *eae* i blandingskultur forsøke å isolere bakteriestammen i renkultur for etterfølgende sero- og genotyping.

#### 4.2.2 Smittevern EPEC

Historisk er tEPEC kjent for å kunne forårsake utbrudd med alvorlig diaré sykdom og bør derfor være meldepliktig når den påvises. Denne EPEC-varianten ses imidlertid så sjelden i Norge at det er vanskelig å begrunne spesifikk diagnostikk for tEPEC. aEPEC/AEEC gir som nevnt vanligvis kun mild diaré, og er sjelden årsak til utbrudd. Det er derfor liten grunn til å at denne EPEC-varianten bør være meldepliktig per se. **Funn av AEEC/aEPEC ved 1) HUS, 2) blodig diare, eller 3) som kan mistenkes å være EHEC-LST på grunn av epidemiologisk relasjon til EHEC-utbrudd, bør derimot være meldepliktig, og skal i så fall meldes som mulig EHEC. Ved langvarig diaré hos lite barn uten funn av annen mer sannsynlig årsak, bør funnet av aEPEC meldes til MSIS. Ved utbrudd hvor aEPEC vurderes som årsak, bør dette kun varsles til Vesuv.**

## Referanser EPEC

1. Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev. 1998;11:142-201.
2. Trabulsi LR, Keller R, Tardelli Gomes TA. Typical and atypical enteropathogenic *Escherichia coli*. Emerg Infect Dis. 2002 May;8(5):508-13.
3. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 7th Edition, Churchill Livingstone, 2010.
4. Afset JE, Bevanger L, Romundstad P, Bergh K. Association of atypical enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) with prolonged diarrhoea. J Med Microbiol. 2004;53:1137-44.
5. Afset JE, Bruant G, Brousseau R, Harel J, Anderssen E, Bevanger L, Bergh K. Identification of virulence genes linked with diarrhea due to atypical enteropathogenic *Escherichia coli* by DNA microarray analysis and PCR. J Clin Microbiol. 2006;44:3703-11.
6. Bielaszewska M, Middendorf B, Köck R, Friedrich AW, Fruth A, Karch H, Schmidt MA, Mellmann A. Shiga toxin-negative attaching and effacing *Escherichia coli*: distinct clinical associations with bacterial phylogeny and virulence traits and inferred in-host pathogen evolution. Clin Infect Dis. 2008;47:208-17.
7. Schimmer B, Nygard K, Eriksen HM, Lassen J, Lindstedt BA, Brandal LT, Kapperud G, Aavitsland P. Outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Norway caused by stx2-positive *Escherichia coli* O103:H25 traced to cured mutton sausages. BMC Infect Dis. 2008 Apr 3;8:41.

## 4.3 Enterohemorragiske *E. coli* (EHEC)

### 4.3.1 Definisjon

EHEC er definert som humanpatogene shigatoksinproduserende *E. coli* (STEC). EHEC kalles også verotoksinproduserende *E. coli* (VTEC). Genene for shigatoksinene ligger imidlertid på bakteriofager, og hos pasienter med HUS er det funnet *E. coli* stammer som utfra en mikrobiologisk totalvurdering er sannsynliggjort at har mistet disse genene, enten i pasienten, på vei til laboratoriet, eller i laboratoriet (EHEC-LST) [1]. Den strenge definisjonen av EHEC må derfor anses som utilstrekkelig.

I prinsippet synes det som at EHEC kan tilhøre en hvilken som helst serogruppe, men visse serotyper er likevel sterkere assosiert med HUS enn andre. Av disse er **O157:H7** hyppigst assosiert med HUS, men EHEC tilhørende serogruppene **O26, O103, O111, O121, O145** ses også relativt hyppig i store materialer. Funnet av en av disse serogruppene i seg selv er imidlertid ikke ensbetydende med EHEC fordi det finnes mange *E. coli* som tilhører disse serogruppene uten å ha shigatoksingener eller andre egenskaper assosiert med blodig diaré eller HUS.

### 4.3.2 EHEC virulensmarkører

På samme måte som EPEC har EHEC evnen til å danne (A/E)-lesjoner. Som for EPEC er det LEE-produserte intimin sentralt for denne evnen. Imidlertid er det beskrevet sporadiske tilfelle og enkelte mindre utbrudd med EHEC komplisert med HUS forårsaket av *eae*-negative stammer [2-4]. For disse stammene synes genene for subtilase cytotoxin AB (*subA*) og autoagglutinerende adhesin (*saa*) å være sentralt [5, 6].

Den klart viktigste virulensfaktoren anses å være shigatoksin. Shigatoksinene transporteres over i blodbanen og forårsaker mikrovaskulær endotelskade og påvirker dessuten ikke-endotelceller til å skille ut inflammasjonsmediatorer [7]. Shigatoksin subtypene stx2, stx2c, stx2d-aktivatable er assosiert med spesielt alvorlig sykdom [8, 9], mens stx1 vesentlig sjeldnere er assosiert med HUS. Subtype av stx1 kan ha betydning for klinisk uttrykk, og denne analysen er i ferd med å etableres ved Referanselaboratoriet i tillegg til sybtyping av stx2.

Betydelig forskning pågår for epidemiologisk og mekanismemessig å klargjøre betydningen av andre virulensmarkørkandidater. Non-shigatoksin effektorer inklusive andre LEE-kodete proteiner,

hemolysin, cytolethal distenderende toksin, serin proteasen EspP, jern-opptaksmolekyler, samt det tidligere nevnte subtilase cytotoxin, har blitt postulert å kunne ha en rolle i EHEC-virulens [10]. Ytterligere andre kandidater er ulike faktorer som kan påvirke opptaket av shigatoksiner i tarmepitel og faktorer som kan ha med ekspresjon av stx-gener å gjøre, men betydningen av disse er ennå uavklart.

Det man håper er etter hvert å kunne foreta, er en såkalt ”molekylær risikovurdering” av de ulike EHEC-stammene, for å kunne tilpasse smitteverntiltak rundt EHEC-pasienter som ikke er alvorlig syke.

### 4.3.3 Epidemiologi og klinisk bilde

Den sanne forekomsten av EHEC i befolkningen er ukjent. Mer sensitiv diagnostikk, og bredere indikasjonsstilling, kan tenkes å ha bidratt til økt antall meldte EHEC-infeksjoner. Men det antas likevel at det er en reell økning i forekomsten de siste årene. Dette hovedsaklig på bakgrunn av at det er en klar økning av meldte tilfeller med HUS som vurderes ikke bare å være en ”start-effekt” etter at denne tilstanden ble meldepliktig i 2006.

EHEC kan forårsake akutt sykdom som diaré, blodig diaré og HUS. Kronisk diaré er beskrevet ved infeksjon med EHEC O117:H7 [11]. Langvarig asymptomatisk bærerskap er vel kjent og kan representere et betydelig sosioøkonomisk problem.

#### Pasienter med økt risiko for HUS og død

Barn under 5-10 år har en veldokumentert økt risiko for diaré-assosiert HUS. Mindre kjent er den økte dødeligheten blant eldre med EHEC-infeksjon [12-14]. Disse gruppene overlapper delvis med smittefaregruppene 3 og 4 i Smittevernboka.

(Det gjøres for øvrig oppmerksom på at andre bakterier enn *E. coli* kan være assosiert med infeksjonsutløst HUS, særlig pneumokokker. Kilde: [www.emedicine.medscape.com](http://www.emedicine.medscape.com))

### 4.3.4 Antibiotikabehandling?

Det antas at behandling med antibiotika kan øke frigjøringen av shigatoksiner fra EHEC-bakterier i tarmen [15], og slik behandling regnes derfor som kontraindisert ved EHEC sykdom selv om dokumentasjonen for denne antakelsen er begrenset [16]. Overfor ansatte som svarer til smittefaregruppe 1 i Norge, og som er langtidsutskillelere av EHEC, har man ved Statens Seruminstitut i Danmark valgt å anbefale antibiotikabehandling, forutsatt ”snill virulensprofil” og informert samtykke [17]. Danskene har i tillegg gjennomført antibiotikabehandling til enkelte pasienter med kronisk EHEC-diaré [11]. Per 2009 hadde ingen av disse pasientene fått HUS (personlig meddelelse fra Flemming Sæuetz, SSI).

### 4.3.5 Smittevern ved påvist EHEC

Det vises til Smittevernboka i E-bokformat på Nasjonalt folkehelseinstitutt sine nettsider, både i generelle kapitler og kapitlet om *E. coli* enteritt. Siden EHEC synes å representere et vidt spekter av ”farlighet”, bør det gjøres en **samlet vurdering av klinikk, om pasienten har økt risiko for alvorlige komplikasjoner, settingen pasienten er i, om det er noen epidemiologisk relasjon til et kjent EHEC tilfelle med alvorlig klinikk, i tillegg til mikrobiologisk påviste karakteristika. Ved HUS bør smittevernet således være strengt, helt uavhengig av *E. coli*-stammens serotype og virulensprofil.**

#### Litteratur EHEC:

1. Bielaszewska M, Kock R, Friedrich AW, von EC, Zimmerhackl LB, Karch H, Mellmann A. Shiga toxin-mediated hemolytic uremic syndrome: time to change the diagnostic paradigm? *PLoS One* 2007;2:e1024.
2. Bonnet R, Souweine B, Gauthier G, Rich C, Livrelli V, Sirot J, Joly B, Forestier C. Non-O157:H7 Stx2-producing *Escherichia coli* strains associated with sporadic cases of hemolytic-uremic syndrome in adults. *J Clin Microbiol* 1998;36:1777-1780.
3. Keskimäki M, Ikaheimo R, Kärkkäinen P, Scheut F, Ratiner Y, Puohiniemi R, Siltanen A. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* serotype OX3:H21 as a cause of hemolytic-uremic syndrome. *Clin Infect Dis* 1997;24:1278-1279.
4. Paton AW, Woodrow MC, Doyle RM, Lanser JA, Paton JC. Molecular characterization of a Shiga toxigenic *Escherichia coli* O113:H21 strain lacking *eae* responsible for a cluster of cases of hemolytic-uremic syndrome. *J Clin Microbiol* 1999;37:3357-3361.
5. Buvens G, Lauwers S, Pierard D. Prevalence of subtilase cytotoxin in verocytotoxin-producing *Escherichia coli* isolated from humans and raw meats in Belgium. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2010.
6. Newton HJ, Sloan J, Bulach DM, Seemann T, Allison CC, Tauschek M, Robins-Browne RM, Paton JC, Whittam TS, Paton AW, Hartland EL. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains negative for locus of enterocyte effacement. *Emerg Infect Dis* 2009;15:372-380.
7. Mellmann A, Bielaszewska M, Karch H. Intrahost genome alterations in enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Gastroenterology* 2009;136:1925-1938.
8. Persson S, Olsen KE, Ethelberg S, Scheut F. Subtyping method for *Escherichia coli* shiga toxin (verocytotoxin) 2 variants and correlations to clinical manifestations. *J Clin Microbiol* 2007;45:2020-2024.
9. Friedrich AW, Bielaszewska M, Zhang WL, Pulz M, Kuczius T, Ammon A, Karch H. *Escherichia coli* harboring Shiga toxin 2 gene variants: frequency and association with clinical symptoms. *J Infect Dis* 2002;185:74-84.
10. Karch H, Mellmann A, Bielaszewska M. Epidemiology and pathogenesis of enterohaemorrhagic *Escherichia coli*. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 2009;122:417-424.
11. Olesen B, Jensen C, Olsen K, Fussing V, Gerner-Smidt P, Scheut F. VTEC O117:K1:H7. A new clonal group of *E. coli* associated with persistent diarrhoea in Danish travellers. *Scand J Infect Dis* 2005;37:288-294.
12. Reiss G, Kunz P, Koin D, Keefe EB. *Escherichia coli* O157:H7 infection in nursing homes: review of literature and report of recent outbreak. *J Am Geriatr Soc* 2006;54:680-684.
13. Gould LH, Demma L, Jones TF, Hurd S, Vugia DJ, Smith K, Shiferaw B, Segler S, Palmer A, Zansky S, Griffin PM. Hemolytic uremic syndrome and death in persons with *Escherichia coli* O157:H7 infection, foodborne diseases active surveillance network sites, 2000-2006. *Clin Infect Dis* 2009;49:1480-1485.
14. Dundas S, Todd WT, Stewart AI, Murdoch PS, Chaudhuri AK, Hutchinson SJ. The central Scotland *Escherichia coli* O157:H7 outbreak: risk factors for the hemolytic uremic syndrome and death among hospitalized patients. *Clin Infect Dis* 2001;33:923-931.
15. Rogers TJ, Paton JC. Therapeutic strategies for Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2009;7:683-686.
16. Safdar N, Said A, Gangnon RE, Maki DG. Risk of hemolytic uremic syndrome after antibiotic treatment of *Escherichia coli* O157:H7 enteritis: a meta-analysis. *JAMA* 2002;288:996-1001.
17. Jensen C, Schiellerup P, Olsen K, Scheut F, Petersen E, Gerner-Smidt P, Molbak K. Antimicrobial treatment of asymptomatic carriers of verocytotoxin-producing *Escherichia coli*: an empiric study. *Scand J Infect Dis* 2005;37:61-63.

## 4.4 Vurdering av shigatoksin-tester

Påvisning av toksin ble opprinnelig utført ved påvisning av toksisk effekt på Vero-celler, men denne metoden er i dag knapt i bruk i klinisk mikrobiologi. I stedet benyttes varianter av ELISA-tester, agglutinasjonstester eller immunkromatografiske hurtigtester for påvisning av toksinene Stx1 og Stx2. Noen tester skiller ikke mellom de to toksinene, mens andre gjør det. I USA er slike tester anbefalt primært (1), da PCR ikke er FDA-godkjent.

Følgende kommersielle kits synes å være aktuelle:

| <b>Kit</b>                                           | <b>Produsent</b>                                 | <b>Kommentar</b>                                                                                                                                                      |
|------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Premier EHEC                                         | Meridian Diagnostics, Inc.<br>(Cincinnati, Ohio) | ELISA-format. På buljong.<br>Skiller ikke mellom Stx1 og 2.                                                                                                           |
| ImmunoCard STAT! EHEC                                | Meridian Diagnostics, Inc.<br>(Cincinnati, Ohio) | Hurtigtest (kort) på kolonier eller buljong<br>Skiller mellom Stx1 og 2.                                                                                              |
| VTEC Screen "Seiken"                                 | Denka Seiken (Japan)                             | På isolat. (kolonistrøk). Agglutinasjon på<br>mikrotiterplate. Skiller ikke mellom Stx1 og 2,<br>men produsenten leverer også tilleggstester til<br>bruk på kolonier. |
| rBiopharm Ridascreen Verotoxin<br>Enzyme Immunoassay | R-Biopharm AG, (Darmstadt,<br>Tyskland)          | ELISA-format. På buljong.<br>Skiller ikke mellom Stx1 og 2.                                                                                                           |
| ProSpecT Shiga Toxin E. coli<br>Microplate Assay     | Remel (Lenexa, Kansas)                           | ELISA-format. På buljong.<br>Skiller ikke mellom Stx1 og 2.                                                                                                           |
| DuoPath Verotoxin test                               | Merck (Tyskland)                                 | På kolonier subkultivert fra buljong.<br>Hurtigtest (kort).<br>Skiller mellom Stx1 og 2.                                                                              |

Noen av testene kan utføres direkte på faeces, men generelt anbefaler produsentene at prøvene inkuberes 16-24 t i en anrikningsbuljong før testing for økt sensitivitet.

#### **4.4.1 Sensitivitet og spesifisitet**

Det er publisert en rekke studier av disse testene, men beregning av sensitivitet og spesifisitet er i stor grad basert på studier av bakteriestammer i renkultur, på sammenligninger med andre hurtigtester, eller på dyrkning kombinert med ulike teknikker, og finner sensitivitet og spesifisitet i størrelsesorden 90-100 %. Vi finner bare tre studier som systematisk sammenligner slike tester med PCR i klinisk prøvemateriale; Beutin 2002 (2), Pulz 2003 (3) og Grif 2007 (4). Oppgitt sensitivitet for hurtigtester i disse studiene varierer mellom 61% og 95%, og spesifisitet mellom 46% og 99,4%. Det kan synes som om visse toksin-undertyper er vanskeligere detekterbare enn andre. Det er også en praktisk erfaring at slike tester kan være så vel falsk negative som falsk positive.

Når det gjelder sammenligning mellom testene, er det også vanskelig å finne gode, systematiske studier. Det foreligger flest studier for Premier EHEC, som synes å komme godt ut i sammenligning med andre hurtigtester.

#### **Litteratur shigatoksintester:**

1. Gould LH, Bopp C, Strockbine N, Atkinson R, Baselski V, Body B, et al. Recommendations for diagnosis of shiga toxin--producing *Escherichia coli* infections by clinical laboratories. *MMWR Recomm Rep* 2009;58(RR-12):1-14.
2. Beutin L, Zimmermann S, Gleier K. Evaluation of the VTEC-Screen "Seiken" test for detection of different types of Shiga toxin (verotoxin)-producing *Escherichia coli* (STEC) in human stool samples. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002;42(1):1-8.
3. Pulz M, Matussek A, Monazahian M, Tittel A, Nikolic E, Hartmann M, et al. Comparison of a shiga toxin enzyme-linked immunosorbent assay and two types of PCR for detection of shiga toxin-producing *Escherichia coli* in human stool specimens. *J Clin Microbiol* 2003;41(10):4671-5.
4. Grif K, Orth D, Dierich MP, Wurznier R. Comparison of an immunochromatographic rapid test with enzyme-linked immunosorbent assay and polymerase chain reaction for the detection of Shiga toxins from human stool samples. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007;59(1):97-9.

## 4.5 Kromogene agarmedier og andre spesialmedier til påvisning av *E. coli* i feces, med særlig vekt på EHEC.

Aktuelle kromogene medier. Det kan være andre kromogene medier på markedet som ikke tatt med i denne oversikten.

| Leverandør                    | Agar                      | Validert materiale | Prinsipp-Produktangivelse                               | Målbakterie(r) for direkte identifikasjon                                                                                    | Farge på kolonier                          | AB-tilsetning? | Fabrikkasjon                                       | Referanser |
|-------------------------------|---------------------------|--------------------|---------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|----------------|----------------------------------------------------|------------|
| BD                            | BBL CHROMagar Orientation | Urin               | <b>β-gal</b><br>beta-glucosidase<br>tryptofan deaminase | <b><i>E. coli</i></b><br>enterokokker<br><i>Proteus, Morganella, Klebsiella</i>                                              | <b>Rosa</b><br>Blå/blågrønn<br>Bleke/beige | Ikke angitt    | Ferdige skåler fra CHROMagar                       | 3,4,5      |
|                               | BBL CHROMagar O157        | Feces, matvarer    | Ikke angitt                                             | <b><i>E. coli</i> O157</b>                                                                                                   | <b>Rosa</b>                                |                |                                                    |            |
| <b>CHROMagar (v/SmithMED)</b> | CHROMagar O157            | Feces              | Ikke angitt                                             | <b><i>E. coli</i> O157, samt mulig noen få andre EHEC og andre <i>E. coli</i> (ikke-EHEC)</b><br>Fleste andre <i>E. coli</i> | <b>Rosa-lilla</b><br>blå                   | Ikke angitt    | Pulver                                             | 6,7,8      |
| Oxoid                         | Brilliance UTI Agar       | Urin               | <b>β-gal</b><br>beta-glucosidase<br>tryptofan deaminase | <b><i>E. coli</i></b><br>enterokokker<br><i>Proteus, Morganella, Klebsiella</i>                                              | Rosa<br>Blå<br>Brun                        | Ikke angitt    | Lisens fra CHROMagar, modifisert<br>Ferdige skåler | 3,5        |
|                               |                           |                    |                                                         |                                                                                                                              |                                            |                |                                                    |            |
| bioMérieux                    | ChromID O157:H7           | Feces              | <b>β-gal</b><br><b>β-gur</b><br><b>β-gur, β-gal</b>     | <b><i>E. coli</i> O157:H7</b><br><b>ikke O157:H7 <i>E. coli</i></b><br><b><i>E. coli</i></b>                                 | <b>Blå-grønne</b><br><b>Rosa/burgunder</b> | CT*            | Ferdige skåler                                     | 3          |
|                               | ChromID CPS               | Urin               | β-glucosidase<br>tryptofan deaminase                    | enterokokker<br><i>Proteus, Morganella, Klebsiella</i>                                                                       | Turkis<br>Brun                             |                |                                                    |            |
| flere                         | SMAC                      | Feces              | Sorbitol                                                |                                                                                                                              |                                            | -              |                                                    |            |
| flere                         | CT-SMAC                   | Feces              | Sorbitol/ cefixim/ telluritt                            |                                                                                                                              |                                            | CT*            |                                                    |            |
| flere                         | CR-SMAC                   | Feces              | Sorbitol/cefixim/rhamnose                               |                                                                                                                              |                                            | cefixim        |                                                    |            |

\*CT = cefixim og telluritt    β-gur = beta-glucuronidase    β-gal = beta-galaktosidase

Ulike leverandører har vært kontaktet. Kontaktpersoner har vært: David Smith (SmithMedical), Wibecke Aasnæs (Oxoid ), Kjell Baekvang (bioMeriux), Vigdis Lysø (Becton Dickinson).

#### 4.5.1 Oppsummering/konklusjon

- Kromogene medier som fra leverandørens side er validert for fecesprøver, har den klassiske O157:H7 som mål-bakterie. I hvilken grad slike skåler vil fange opp for eksempel den SF O157 fra 2009-2010-utbruddet (som blant annet er telluritt følsom), er uvisst
- Kromogene ”UTI”- skåler påviser *E. coli* av alle typer, men er kun validert fra leverandørens side til bruk på urinveisprøver (sannsynligvis bare på urinveis- *E. coli*, og ikke tarmpatogene *E. coli*). En vurdering av i hvilken grad disse mediene kan egne seg for isolering av non-O157 tarmpatogene *E. coli*, er svært vanskelig, ettersom litteraturen på området synes svært sparsom:
  - Se ref 4 (liten omtale av tarmpatogene *E. coli* spesielt) og ref 5
  - Det finnes flere publikasjoner på sammenlikning av tradisjonelle fecesagarer (SMAC etc) og kromogene fecesagarer som fanger O157 positive stammer, men få som sammenlikner tradisjonelle agarer og kromogene agarer som fanger alle (non O157) *E. coli*

#### Referanse og utvalgte nettsider:

- 1) Church DL et al: Evaluation of BBL CHROMagar O157 versus Sorbitol-MacConkey Medium for Routine Detection of *E. coli* in a Centralized Regional Clinical Microbiology Laboratory. *JCM* 2007; 45:3098-3100.,
- 2) Vetterli KM. Comparison of BBL™ CHROMagar O157 to Sorbitol MacConkey for Recovery of *E. coli* in stool cultures. *Abstract ASM New Orleans 2004*
- 3) Miles KI, Wren WD. Evaluation of three commercial agar preparations for the presumptive identification of significant urinary isolates. *British Journal of Biomedical Science* 2005; 62:179-81
- 4) Ohkusu K. Cost-Effective and Rapid Presumptive Identification of Gram-Negative Bacilli in routine Urine, Pus, and Stool Cultures: Evaluation of the Use of CHROMagar Orientation Medium in conjunction with Simple Biochemical Tests. *JCM* 2000; 38:4586-92
- 5) Filius PM et. Al. Comparative evaluation of three chromogenic agars for detection and rapid identification of aerobic Gram-negative bacteria in the normal intestinal microflora. *CMI* 2003;9:912-18
- 6) Bettelheim KA. Reliability of CHROMagar O157 for the detection of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) O157 but not EHEC belonging to other serogroups. *J Appl Microbiol* 1998;85:425-428
- 7) <http://www.smithmed.com/>
- 8) [www.chromagar.com](http://www.chromagar.com)

## 4.6 Enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC)

### 4.6.1 Definisjon

EAEC er definert som diaregivande *E. coli* med typisk aggregerande adheranse til HEp-2 celler i kultur og danning av karakteristisk biofilm på tarmepitel.

EAEC er ei heterogen gruppe, og det er ikkje påvist nokon enkelt virulensfaktor som er felles for alle bakteriar i denne gruppa. EAEC tilhøyrrer heller ikkje spesifikke serogrupper av *E. coli* (1).

### 4.6.2 Patogenese

Patogenesen er ikkje fullstendig kartlagd, men adheranse til tarmmukosa, danning av biofilm samt produksjon av ulike toksin er viktige faktorar (1). Mikroben synest å ha evne til å unngå verten sitt immunforsvar og kan vera årsak til asymptomatisk kronisk inflammasjon i tarmen (2). Det er påvist samanheng mellom vertsgenotype (polymorfisme i IL-8 promoterregion) og symptom ved EAEC-infeksjon (3).

### 4.6.3 Klinisk bilde

Det kliniske bildet spenner frå asymptomatisk infeksjon, via milde symptom som magesmerter, kvalme og oppkast til akutt vandig diare med eller utan slim/ blod. Lavgradig feber kan førekomma. EAEC årsakar også kronisk diare. Kronisk inflammasjon i tarm kan truleg føra til malabsorbsjon/ malnutrisjon, også utan at det føreligg gastrointestinale symptom (4).

### 4.6.4 Epidemiologi

#### Akutt diare

I utviklingsland er funn av EAEC assosiert med akutt diare hos både born og vaksne. I industrialiserte land er funn av EAEC først og fremst assosiert med akutt diare hos personar som har reist til utviklingsland (turistdiare), men det er også påvist ein svak assosiasjon med akutt diare hos barn utan slik reiseanamnese (5). Det er usikkert om HIV-infiserte personar er meir utsett for symptomatisk EAEC-infeksjon enn HIV-negative personar (6).

Akutt infeksjon med EAEC førekjem både som sporadiske tilfelle og som ledd i større utbrot. Smitte via næringsmidlar er viktigaste smittemåte (1, 4).

#### Kronisk diare (varigheit > 14 dagar)

Funn av EAEC er assosiert med kronisk diare i utviklingsland, særleg hos barn < 2 år (4). Kronisk EAEC-infeksjon hos barn i utviklingsland er assosiert med malabsorbsjon.

### 4.6.5 Indikasjon for diagnostikk av EAEC i Noreg

Den norske EAEC-epidemiologien er ukjent og det ville vore nyttig med ein norsk/ nordisk studie med tanke på å kartleggja førekomsten av denne mikroben hos ulike grupper av norske/ nordiske pasientar med kronisk diare. I mangel på kjennskap til nasjonal epidemiologi, baserer tilrådingane for diagnostikk seg på internasjonal litteratur.

#### Akutt diare

Det er rimeleg å anta at akutt EAEC-infeksjon først og fremst er aktuelt hos personar som

kjem frå, eller har vore på reise i utviklingsregionar. Det er også rimeleg å anta at ein akutt EAEC-infeksjon vil vera sjølvavgrensande og det synest derfor ikkje rimelig å tilrå rutinemessig påvising av EAEC ved akutt diare.

#### Vedvarande diare

Det kan vera aktuelt å utføra spesifikk EAEC-diagnostikk hos personar med vedvarande diare (> 14 dagar), særleg hos personar som kjem frå utviklingsregionar (t.d. flyktningar og innvandrarar), og i alle fall dersom ein ikkje påviser annan årsak til vedvarande diare.

#### Malabsorbsjon

Spesifikk EAEC-diagnostikk kan vera aktuelt hos barn (< 2 år), særleg frå utviklingsland, med symptom på malabsorbsjon, og der annan årsak til dette ikkje blir påvist.

#### Utbrottsopklaring

EAEC kan smitta via næringsmiddlar og har dermed eit utbrotspotensiale. Det kan derfor vera aktuelt med spesifikk EAEC-diagnostikk i samband med utgreiing av mistenkt næringsmiddelassosiert sjukdomsutbrot.

### **4.6.6 Påvising og identifikasjon av EAEC**

Gullstandarden er påvising av typisk aggregerande adheranse til HEp-2 celler i kultur, men denne metoden er svært arbeidskrevjande og lite eigna for rutinediagnostikk (4). Serotyping har ingen plass i identifikasjon då EAEC har stor tendens til autoagglutinasjon samt at dette er ei svært heterogen gruppe med tanke på serotypar (1).

Det er publisert ulike molekylærbiologiske metodar for påvising av EAEC som baserer seg på påvising av virulens- eller regulatorgener slik som EAEC heat-stable toxin (EAST1) og et protein involvert i colonisering (Pic), samt CVD432-sekvensen (7). Dessverre er det så langt ikkje påvist slike gener som går igjen i alle EAEC og/ eller som er spesifikke for EAEC. Desse metodane har derfor lav sensitivitet og spesifisitet samanlikna med gullstandarden (4). Som eksempel kan nemnast at *AggR*, som truleg er ein av dei mest nytta målsekvensane til påvising og identifikasjon av EAEC, i ein studie vart påvist i berre om lag 90% av isolata (1). På trass av dette er det nok slike molekylærbiologiske metodar som er mest realistisk å ta i bruk ved norske rutinelaboratorium.

Biofilm-assay har også vore nytta ved screening med tanke på å påvisa EAEC. Dette kan vera ein nyttig metode, særleg i større epidemiologiske studiar (4).

### **4.6.7 Konklusjon EAEC**

Påvising av EAEC i Noreg er først og fremst aktuelt ved persisterande diare (>14 dagar). Det er usikkert kor stort behovet for diagnostikk er, og ideelt sett bør det gjennomførast ein klinisk-epidemiologisk undersøking for å kartlegga dette. Sjølv om det bør finnast tilbod om diagnostikk med tanke på EAEC i Noreg, er behovet truleg så lite at det vil vera tilstrekkeleg å ha tilbod på nasjonalt eller regionalt nivå.

## Litteratur EAEC:

1. Weintraub A. Enteroaggregative *Escherichia coli*: epidemiology, virulence and detection. *J Med Microbiol.* 2007 Jan;56(Pt 1):4-8.
2. Okhuysen PC, Dupont HL. Enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC): a cause of acute and persistent diarrhea of worldwide importance. *J Infect Dis.* (2010) 202 (4): 503-505.
3. Jiang ZD, Okhuysen PC, Guo DC, He R, King TM, DuPont HL, Milewicz DM. Genetic susceptibility to enteroaggregative *Escherichia coli* diarrhea: polymorphism in the interleukin-8 promoter region. *J Infect Dis.* 2003 Aug 15;188(4):506-11. Epub 2003 Jul 25.
4. Kaur P et al. Enteroaggregative *Escherichia coli*: An Emerging Enteric Food Borne Pathogen. *Interdiscip Perspect Infect Dis.* 2010;2010:254159. Epub 2010 Mar 11.
5. Huang DB, Nataro JP et al. Enteroaggregative *Escherichia coli* Is a cause of Acute Diarrheal Illness: A Meta-Analysis. *Clin Infect Dis.* 2006; 43(5): 556-63
6. Huang DB, Mohanty A, DuPont HL, Okhuysen PC, Chiang T. A review of an emerging enteric pathogen: enteroaggregative *Escherichia coli*. *J Med Microbiol* 2006 55: 1303-1311
7. Pereira AL, Ferraz LR, Silva RS, Giugliano LG. Enteroaggregative *Escherichia coli* virulence markers: positive association with distinct clinical characteristics and segregation into 3 enteropathogenic *E. coli* serogroups. *J Infect Dis* 2007;195(3):366-74