

RAPPORT

2026

STRATEGIMØTE MEDISINSK MIKROBIOLOGI 2024:

Identifikasjon av bakterier og sopp innen medisinsk mikrobiologi

Program · Anbefalinger · Bakgrunnsinformasjon

STRATEGIMØTE MEDISINSK MIKROBIOLOGI 2024

Identifikasjon av bakterier og sopp innen medisinsk mikrobiologi

Program • Anbefalinger • Bakgrunnsinformasjon

23. oktober 2024

Redaktører:

Ståle Tofteland (leder)

Andre Ingebretsen

Kjersti Wik Larssen

Øyvind Kommedal

Therese Johansen

Caroline Vestby Knudsen (FHI)

Utgitt av Folkehelseinstituttet
Område for Smittevern
Avdeling for Bakteriologi
Mars 2026

Tittel:

Strategimøte medisinsk mikrobiologi 2024
Identifikasjon av bakterier og sopp innen medisinsk mikrobiologi

Redaktører:

Ståle Tofteland
Andre Ingebretsen
Kjersti Wik Larssen
Øyvind Kommedal
Therese Johansen
Caroline Vestby Knudsen

Publikasjonstype:

Strategirapport

Oppdragsgiver:

Nasjonalt forum for medisinsk mikrobiologi ved Referansegruppen for ekstern kvalitetsvurdering i bakteriologi, mykologi og parasittologi.

Bestilling:

Rapporten kan lastes ned som pdf
på Folkehelseinstituttets nettsider: www.fhi.no

ISBN 978-82-8406-556-4 elektronisk utgave

Sitering: Tofteland S., Ingebretsen A., Wik Larssen K., Kommedal Ø., Johansen T., Knudsen C V. Identifikasjon av bakterier og sopp innen medisinsk mikrobiologi 2024. Rapport 2026. Oslo: Folkehelseinstituttet.

Strategimøte nr. 37, 2024

Identifikasjon av bakterier og sopp innen medisinsk mikrobiologi

23. oktober 2024

Programkomité:

Ståle Tofteland (leder)

Andre Ingebretsen

Kjersti Wik Larssen

Øyvind Kommedal

Therese Johansen

Caroline Vestby Knudsen (FHI)

Forord

Det 37. Strategimøte i regi av Referansegruppen for eksterne kvalitetsvurderinger i bakteriologi, mykologi og parasittologi omhandlet identifikasjon av bakterier og sopp i medisinske mikrobiologiske avdelinger i Norge. Maldi-TOF MS identifikasjon har revolusjonert identifikasjon i mikrobiologiske avdelinger og gjør identifikasjonene både bedre, raskere og billigere enn hva man kunne oppnå med tidligere metoder. Raskere og mer korrekt identifikasjon øker den kliniske relevansen av vårt diagnostiske arbeid. Samtidig med at denne teknologien er tatt i bruk skjer taksonomiske endringer i økende tempo, også disse muliggjort av teknologisk utvikling (DNA-DNA hybridisering - > 16SrRNA sekvensering ->WGS, etc). Produsentenes jevnlig oppdateringer av Maldi-TOF MS spekter-databasene gjør at mange av disse taksonomiske endringene treffer oss i kliniske laboratorier med en gang og hele tiden "enten vi vil, eller ikke". Målsettingen med dette strategimøtet var å gi en status for identifikasjonen etter om lag 10 års bruk av Maldi-Tof MS til identifikasjon, og videre å enes om en struktur for jevnlig samarbeid og felles anbefalinger for klinisk relevant identifikasjonsarbeid i norske medisinsk mikrobiologiske avdelinger.

Møtet ble avholdt 23.10.2024 på Nationaltheatret Konferansesenter, Haakon VII's gate 9, i Oslo. På møtet deltok 39 personer fra landets medisinsk-mikrobiologiske laboratorier, inkludert 16 representanter, 7 observatører og 16 med andre roller (programkomiteens medlemmer, innledere, medlemmer i referansegruppen). Det var ingen digitale representanter, men 13 personer fra landets laboratorier var påmeldt som digitale observatører/det reelle antallet var høyere, siden lenke til møtet kunne deles til andre ved samme laboratorium).

Ansvarlig programkomité, som også har ferdigstilt denne avsluttende rapporten, var Andre Ingebretsen, Kjersti Wik Larssen, Øyvind Kommedal, Therese Johansen og Ståle Tofteland (leder).

Rapporten inneholder sammendrag med anbefalinger samt bakgrunnsinformasjon som utgjøres av innleggene som ble presentert på møtet. Bakgrunnsinformasjonen er skrevet av de ansvarlige for innleggene i forståelse med programkomiteen, og ble sendt ut til deltakerne i forkant av møtet. Sammendrag med anbefalinger er ført i pennen av programkomiteen i forståelse og dialog med de ansvarlige for innleggene i etterkant av møtet.

Programkomiteen arbeidet på oppdrag fra Referansegruppen for ekstern kvalitetsvurdering i bakteriologi, mykologi og parasittologi. Bak sistnevnte står Nasjonalt forum for medisinsk mikrobiologi, som er et kollegialt forum for mikrobiologer med medisinsk ansvar ved landets laboratorier, forankret i avtaler om nasjonalt samarbeid mellom Folkehelseinstituttet og de enkelte mikrobiologiske laboratoriene i Norge.

Rapporten gjenspeiler det samlede norske medisinsk-mikrobiologiske miljøets beste kunnskap og praksis for å sikre god kvalitet i identifikasjonsarbeidet i Norge.

Vi håper rapporten blir nyttig for de enkelte laboratoriene.

Oslo, mars 2026
For Referansegruppen

Kjersti Wik Larssen, leder for referansegruppen i bakteriologi, mykologi og parasittologi

Innholdsfortegnelse

Forord	4
Forkortelser og definisjoner som er benyttet i dette dokumentet.....	7
Program for møtet.....	12
DEL 1 – Anbefalinger og kunnskapsgrunnlag.....	13
Programstruktur	14
Del I Generelt om databaser, kvalitetskontroll og svarrapportering	15
1. Massespekterdatabaser	16
2. Kvalitetskontroll av Maldi-TOF MS metoden	18
3. Kvalitet i klinisk svarrapportering.....	20
Del II Spesielle forhold knyttet til identifikasjon av ulike bakterie- og soppgrupper	23
4. Aerobe og fakultative bakterier	24
5. Muggsopp.....	29
6. Dermatofytter	31
7. Gjærsopp	32
8. Mykobakterier	34
9. Anaerober.....	35
Del III Spesialtemaer	37
10. Biosikkerhet når Maldi-TOF MS benyttes til identifikasjon.....	38
11. Identifikasjon når Maldi-TOF MS er utilgjengelig.....	41
12. Rollen til nukleinsyrebasert identifikasjon	43
Del IV Identifikasjon direkte fra materiale	44
13. Identifikasjon direkte fra positiv blodkulturflaske	45
Del V Framtidig bruk av Maldi-TOF MS, og opprettelse av en nasjonal Arbeidsgruppe for identifikasjon (AFI-gruppen).....	47
14. Framtidig bruk av Maldi-TOF MS.....	48
15. Opprettelse av nasjonal Arbeidsgruppe for identifikasjon (AFI).....	49
DEL 2 - INNLEGGENE/ BAKGRUNNSINFORMASJON	52
Massespekterdatabaser for identifikasjon av mikrober	53
Kvalitetskontroll av massespektrometri.....	57
Kvalitetssikring og harmonisering av svarrapportering av bakterie- og sopp-identifikasjon ved Maldi-TOF MS	61
Identifikasjon når Maldi-TOF MS «er nede»	70
Bio-/labsikkerhet ved identifikasjonsarbeid på lab – Maldi-TOF MS	75
Nukleinsyrebaserte metoders rolle i species-identifikasjon	80

Maldi-TOF MS identifikasjon direkte fra positiv blodkulturflaske	83
Identifikasjon av aerobe og fakultative bakterier	95
Identifikasjon av anaerober med Maldi-TOF MS	107
Identifikasjon av muggsopp med Maldi-TOF MS	113
Identifikasjon av dermatofytter med Maldi-TOF MS	120
Identifikasjon av gjærsopp med Maldi-TOF MS	125
Identifikasjon av mykobakterier.....	134
Framtidig bruk av Maldi-TOF	138
VEDLEGG: Påmeldte deltakere.....	141
VEDLEGG: Spørreundersøkelse sendt ut i forkant av møtet.....	143
VEDLEGG: Presentasjon om bakterie- og (mugg)sopp-taksonomi og - nomenklatur på Nettundervisningen 17.oktober 2024.....	166
VEDLEGG: Saksfremlegg og møtereferater om AFI til nasjonalt forum for medisinsk mikrobiologi, FHI 5.des 2024 og 3. des 2025.....	189

Forkortelser og definisjoner som er benyttet i dette dokumentet

Forkortelse	Forklaring
16S rRNA	Ribosomalt RNA-gen brukt til bakterieidentifikasjon.
28S rRNA	Ribosomalt RNA brukt til soppidentifikasjon.
AFI	Arbeidsgruppe For Identifikasjon – nasjonal faggruppe for mikrobiologisk ID.
ANI	Average Nucleotide Identity – genomisk likhet brukt i artsdifferensiering.
API NH	Biokjemisk ID-system for <i>Neisseria</i> og <i>Haemophilus</i> .
API20E	Kommersielt biokjemisk identifikasjonssystem for enterobakterier.
API20NE	Biokjemisk ID-system for ikke-enterobakterier (non-fermentere).
Arginin dihydrolase	Påviser evne til å hydrolysere arginin. Brukes i differensiering av gram-negative staver.
ATCC	American Type Culture Collection – referansestammer.
BBE-agar	Selektivt medium for anaerobe bakterier.
BCID	Blood Culture Identification – molekylært testpanel.
BD Phoenix	Automatisk ID- og resistenssystem fra BD.
Beta-galaktosidase	Påviser evne til å spalte laktose. Brukes i identifikasjon av enterobakterier.
Beta-glukuronidase	Påviser enzymaktivitet hos f.eks. <i>E. coli</i> . Brukes i hurtigidentifikasjon.
BFF	Bruker Filamentous Fungi database – Maldi-TOF MS database for muggsopp.
BioFire	Multiplex PCR-plattform fra bioMérieux.
BSL3	Biosafety Level 3 – høysikkerhetslaboratorium for farlige mikrober.
BTS	Bacterial Test Standard – kvalitetskontrollstandard for Maldi-TOF MS.
CAMP-test	Synergitest mellom <i>S. aureus</i> og <i>S. agalactiae</i> – brukes til identifikasjon av gruppe B-streptokokker.
CFU	Colony Forming Units – måleenhet for bakteriekonsentrasjon.
Citrattest	Tester evne til å bruke citrat som eneste karbonkilde. Skiller f.eks. <i>Klebsiella</i> (positiv) fra <i>E. coli</i> (negativ).
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute – retningslinjer for mikrobiologi.
CNS	Central Nervous System – brukt i kontekst av prøvemateriale.
CNS-panel	Molekylært testpanel for CNS-prøver.

CSF	Cerebrospinalvæske – prøvemateriale ved meningitt.
DNase	Påviser evne til å hydrolysere DNA. Skiller f.eks. <i>S. aureus</i> (positiv) fra andre stafylokokker.
Easyplex	Multiplex PCR-plattform.
EHEC	Enterohemorragisk <i>E. coli</i> – diarefremkallende patotype.
EIEC	Enteroinvasiv <i>E. coli</i> – patogen som ligner <i>Shigella</i> .
EQA	External Quality Assessment – ekstern kvalitetskontroll.
Esculin hydrolyse	Påviser evne til å hydrolysere esculin. Brukes i identifikasjon av enterokokker og <i>Listeria</i> .
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.
FilmArray	BioFire-systemets testpaneler.
Galleoppløselighetstest	Test for å skille <i>S. pneumoniae</i> fra viridansstreptokokker.
GAS	Gruppe A-streptokokker – <i>S. pyogenes</i> .
GBS	Gruppe B-streptokokker – <i>S. agalactiae</i> .
Gelatinase	Påviser evne til å hydrolysere gelatin. Brukes i differensiering av <i>Bacillus</i> og andre gram-positive.
GenoType CM/AS	LPA for identifikasjon av non-tuberkuløse mykobakterier.
H2S	Biokjemisk test som påviser hydrogensulfidproduksjon – brukes til å skille arter som <i>Salmonella</i> (H2S+) fra <i>Shigella</i> (H2S-).
HGS	Helgenomsekvensering – gullstandard for artsidentifikasjon.
IJSEM	International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology – publiserer nye mikrobiologiske arter.
Indol	Biokjemisk test som påviser evne til å omdanne tryptofan til indol – viktig for å skille <i>E. coli</i> (indol+) fra <i>Enterobacter</i> og <i>Klebsiella</i> (indol+/-).
ipaH	Gen brukt til molekylær identifikasjon av <i>Shigella</i> og EIEC.
ITS	Internal Transcribed Spacer – genetisk barkode for sopp.
IVD	In Vitro Diagnostics – godkjente systemer for klinisk bruk.
Katalase	Påviser tilstedeværelse av katalaseenzym. Skiller stafylokokker (positiv) fra streptokokker (negativ).
Klassifikasjon	Evolusjonsbasert gruppering av mikrober, ikke nødvendigvis regulert.

Koagulase	Påviser evne til å koagulere plasma. Skiller <i>S. aureus</i> (positiv) fra koagulase-negative stafylokokker.
Kromogen agar	Selektivt medium med fargeindikatorer for presumptiv ID.
Lancefield-gruppering	Serologisk klassifisering av streptokokker basert på celleveggantigener.
LAP	Påviser leucine aminopeptidase. Brukes i differensiering av streptokokker.
LAP-test	Leucine Aminopeptidase – test for streptokokkdifferensiering.
LDC	Lysine Decarboxylase – test for differensiering av enterobakterier, f.eks. <i>Shigella</i> (neg) vs. <i>Salmonella</i> (pos).
LIMS	Laboratory-Information-Management-System – avansert system for laboratoriedata og prosesskontroll.
LIS	Laboratorie-Informasjons-System – datasystem for håndtering av laboratorieprøver.
LPA	Line Probe Assay – hybridiseringsbasert identifikasjon.
Maldi-TOF MS	Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry – rask identifikasjon av mikrober basert på proteomprofil.
MALDIBANK	EU-prosjekt for åpen Maldi-TOF MS database.
MBT Biotyper	Maldi-TOF MS instrument fra Bruker.
MBT Compass	Maldi-TOF MS programvare fra Bruker for mikrobiell ID.
MBT Sepsityper Modul	Programvaremodul for direkte ID fra blodkultur.
ME-panel	Meningitis/Encephalitis panel – molekylær test.
MicrobeNet	CDC-database for mikrobiell identifikasjon.
MicroScan	Kommersielt ID-system for bakterier og sopp.
Motilitetstest	Påviser bakteriers evne til å bevege seg. Skiller f.eks. <i>Klebsiella</i> (ikke-motil) fra <i>Enterobacter</i> (motil).
MR-test (Methyl Red)	Påviser blandet syrefermentering. Skiller f.eks. <i>E. coli</i> (positiv) fra <i>Enterobacter</i> (negativ).
MSI2.0	Offentlig kurert Maldi-TOF MS database for soppidentifikasjon.
MSIS	Meldingssystem for smittsomme sykdommer – nasjonal overvåking.
MTBC	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> -kompleks.
MTBDRplus	LPA for påvisning av resistens hos <i>M. tuberculosis</i> .
MTBDRsl	LPA for påvisning av resistens mot andre tuberkulosemedikamenter.

NamesforLife	Database for mikrobiell nomenklatur.
NEQAS	Ekstern kvalitetsvurdering for mikrobiologi.
Nitratreduksjon	Tester evne til å redusere nitrat til nitritt. Brukes i differensiering av enterobakterier.
Nomenklatur	Regulert navnsetting for mikrober i henhold til internasjonale regler.
NordicAST	Nordisk samarbeid om resistensbestemmelse.
NORM	Norsk overvåkingssystem for antibiotikaresistens.
Oksidase	Påviser cytokrom c oksidase. Skiller f.eks. <i>Pseudomonas spp</i> (positiv) fra <i>Enterobacterales</i> (negativ).
ONPG	Påviser beta-galaktosidase. Brukes for å identifisere laktose-positive, sen-fermenterende bakterier.
Optochin	Hemningsdisk brukt for identifikasjon av <i>S. pneumoniae</i> .
Ornitin dekarboksylase	Påviser evne til å dekarboksylerer ornitin. Brukes i differensiering av enterobakterier.
PCR	Polymerase Chain Reaction – amplifikasjon av DNA for påvisning og ID.
PM	Periodisk vedlikehold – fra leverandør.
PYR	Påviser pyrrolidonyl arylamidase. Skiller f.eks. <i>Enterococcus</i> (positiv) fra streptokokker.
QC	Quality Control – kvalitetskontroll av laboratorieprosedyrer.
Revers CAMP-test	Test for identifikasjon av <i>Clostridium perfringens</i> .
rpoB	Gen brukt som alternativ til 16S for bedre artsoppløsning.
RUO	Research Use Only – systemer ikke godkjent for klinisk diagnostikk.
SAB	Sabouraud agar – medium for dyrking av sopp.
SARAMIS	Maldi-TOF MSprogramvare fra bioMérieux.
Sepsityper	Kit for direkte identifikasjon fra blodkultur med Maldi-TOF MS.
SOP	Standard Operating Procedure – standardisert arbeidsprotokoll.
SR-database	Bioterror-database for identifikasjon av høyrisikomikrober.
STEC	Shiga-toxin producing <i>E. coli</i> – potensielt alvorlig patogen.
Taksonomi	Systematisk klassifisering av organismer basert på slektskap og egenskaper.
TFA	Trifluoroacetic Acid – brukt til inaktivering av mikrober før Maldi-TOF MS.
Trehalose fermentering	Tester evne til å fermentere trehalose. Brukes i identifikasjon av f.eks. <i>Listeria spp</i> .

Urease	Påviser evne til å spalte urea til ammoniakk. Brukes for å skille f.eks. <i>Proteus spp</i> (positiv) fra andre enterobakterier.
VITEK	Automatisk identifikasjonssystem for mikrober.
VITEK MS PRIME	Nyeste Maldi-TOF MS instrument fra bioMérieux.
VKB	VITEK MS IVD Knowledge Base – database for mikrobiell ID.
VP-test (Voges-Proskauer)	Påviser acetoinproduksjon. Skiller f.eks. <i>Enterobacter</i> (positiv) fra <i>E. coli</i> (negativ).
VTEC	Verotoxin-producing <i>E. coli</i> – synonym til STEC.
WGS	Whole Genome Sequencing – helgenomsekvensering for presis identifikasjon.
Zenodo	Åpen plattform for deling av vitenskapelige data.

Tabellen er utarbeidet med bruk av kunstig intelligensverktøy (Co-pilot) og deretter gjennomgått av fagmennsker (programkomiteen).

Program for møtet

PROGRAM: Identifikasjon (ID) av bakterier og sopp.			
Start kl.	t (min)	Undertema	Innleder
09:30	20	Registrering	
09:50	5	Velkomst fra referansegruppa (leder)	Kjersti Wik Larssen, St.Olavs H
09:55	5	Innledning/møteledelse programkomiteen (leder).	Ståle Tofteland, SSHF
10:00	-	START FAGLIG PROGRAM	
10:00	15	Massespekterdatabaser.	Andre Ingebretsen, OUS
10:15	10	Kvalitetskontroll av massespektrometri (MS) – metoden.	Torbjørn S. Bruvold, HUS
10:25	25-30	Kvalitetssikring av svarrapportering ved bruk av MS – det kliniske perspektivet.	Jørgen V. Bjørnholt, OUS
10:50-55	5-10	Oppsummering-avklaringer.	Ståle/Andre
11:00	14	Pause	
11:15	20	Identifikasjon når MS «er nede».	Anita Kanestrøm, Sykehuset Østfold, Kalnes
11:35	20	Bio/labsikkerhet ved identifikasjons-arbeid i lab	Truls M. Leegaard, Ahus
11:55	20	MS-identifikasjon direkte fra positive blodkulturflasker.	Alexandra Jakovljevic, St.Olavs H
12:15	5	Oppsummering-avklaringer.	Therese/Ståle
12:20	58	Lunsj	
13:20	13	MS-ID av aerobe og fakultative bakterier.	Aasmund Fostervold, SUS
13:33	12	Identifikasjon ved nukleinsyrebaserte metoder.	Øyvind Kommedal, HUS
13:45	15	Identifikasjon av muggsopp med MS.	Kjersti Wik Larssen, St.Olavs hospital
14:00	10	Identifikasjon av dermatofytter (med MS som primærdiagnostisk verktøy).	Ida Sletteberg, MRHF (Molde)
14:10	15	Identifikasjon av gjærsopp.	Cecilie Torp Andersen, ref.lab. (OUS)
14:25	5	Oppsummering-avklaringer.	Kjersti/Øyvind
14:30	5	Benstrekk i lokalet	
14:35	10	Identifikasjon av mykobakterier.	Andre Ingebretsen, OUS og Anne Torunn Mengshoel, ref.lab. (FHI)
	10	Identifikasjon av anaerober.	Tore Taksdal Stubhaug, SiV
14:55	5	Oppsummering-avklaringer.	Andre/Kjersti
15:00	2	Benstrekk i lokalet	
15:02	15	Annen bruk og mulige utviklinger innen ID for MS i lab.	Andre Ingebretsen, OUS
15:17	13	Oppsummering. Avsluttende innspill til komiteen fra deltakerlaboratoriernes representanter.	Ståle Tofteland, SSHF /øvrige i programkomiteen
15:30	-	SLUTT FAGLIG PROGRAM	

DEL 1 – Anbefalinger og kunnskapsgrunnlag

FØR MØTET

Som del av den faglige forberedelsen til strategimøtet utarbeidet innlederne sitt vitenskapelige bakgrunnsmateriale og forslag til anbefalinger, som ble sendt ut til det medisinsk-mikrobiologiske miljøet i Norge >2 uker før strategimøtet. Bakgrunnsinformasjonen ble forutsatt kjent for representantene i møtet.

MØTEDAGEN

På møtedagen holdt innlederne en presentasjon med søkelys på forslag til anbefalinger underbygget med kort argumentasjon som ellers framkommer i bakgrunnsinformasjonen. Forslag til anbefalinger som krever diskusjon eller kan forventes å være kontroversielle skal fremheves.

ETTER MØTET

Etter møtet utarbeidet Programkomiteen et utkast med forslag til anbefalinger med bakgrunn i innlegg og diskusjoner. Dette utkastet er gjennomgått av både innledere og Referansegruppen. Et omforent forslag fra disse aktørene ble deretter sendt til høring til Representantene fra hver enkelt avdeling som deltok i møtet. Alle representanter skulle svare på om de godkjente rapportforslaget eller ikke, og ev. komme med forslag til endringer. Det ble forutsatt at hver enkelt representant forankret sitt svar i avdelingen.

Etter denne høringen har Programkomiteen sammenstilt en endelig rapport i dialog med representanter ved behov, og så er denne endelige rapporten oversendt til Referansegruppen for distribusjon.

Ingen endringer i anbefalingene som framkommer i rapportsammendraget oppfattes som vesentlige i forhold til slik de var presentert av innlederne i bakgrunnsinformasjonen forut for møtet eller av innlederne i møtepresentasjonen. Noen anbefalinger som finnes i bakgrunns materialet, er ikke tatt inn i rapportsammendraget. De endelige anbefalingene slik de framkommer i sammendraget er forankret i høringer etter møtet mellom programkomité, innledere, referansegruppe og representanter.

Programstruktur

Del I inneholder generelle forhold knyttet til massespekterdatabaser, kvalitetskontroll av Maldi-TOF MS samt kvalitetsvurdering av svarrapporteringen.

Del II inneholder spesielle forhold knyttet til identifikasjon av ulike grupper av bakterier og sopp, med hovedvekt på Maldi-TOF MS. For grupper eller arter der andre metoder har en sentral plass og kan være eller er nødvendig er dette nevnt under hvert underkapittel.

Del III inneholder omtale av noen spesielle temaer knyttet til (i) biosikkerhet, (ii) identifikasjon når Maldi-TOF MS er utilgjengelig og (iii) generelle forhold knyttet til nukleinsyrebaserte metoders rolle innen identifikasjon til artsnivå (ikke til typing).

Del IV omtaler identifikasjon direkte fra prøvematerialet. Kun identifikasjon direkte fra blodkultur ble omtalt på Strategimøtet.

Del V omtaler (i) framtidig bruk av Maldi-TOF MS, og (ii) mandatet gitt av møtet for veien videre for opprettelse av en arbeidsgruppe som skal jobbe kontinuerlig med metodespørsmål og spørsmål knyttet til klinisk svarrapportering – en AFI-gruppe (Arbeidsgruppe for Identifikasjon).

Del I Generelt om databaser, kvalitetskontroll og svarrapportering

Del I inneholder generelle forhold knyttet til massespekterdatabaser, kvalitetskontroll av Maldi-TOF MS samt kvalitetsvurdering av svarrapporteringen.

Forut for møtet ble det 17. oktober avholdt et Teamsmøte i regi av Nettundervisningen om hhv. bakterie- og sopptaksonomi:

- *“Endringer i sopp-taksonomi. Hva, hvorfor og uavklarte problemer” ved Kjersti Wik-Larssen (St.Olavs)*
- *“Viktige endringer innen taksonomi og nomenklatur hos bakterier og sopp” ved Andre Ingebretsen (OUS)*

Presentasjonen er vedlagt (se vedleggsavsnittet), og er å betrakte som en innledning til den generelle delen av møtet.

1. Massespekterdatabaser

Bakgrunn

God identifikasjon av mikroorganismer ved bruk av Maldi-TOF MS avhenger av en rekke faktorer. Metoden forutsetter at det finnes et godt spekter av mikroorganismen i Maldi-TOF MS systemets spekterdatabase eller i en ekstern spekterdatabase for at identifikasjon av mikroorganismen skal kunne finne sted.

De siste årene har det blitt introdusert flere Maldi-TOF MS systemer på markedet og alle har sitt eget spekterbibliotek der referansespektrene har blitt produsert på litt forskjellig måte. I tillegg finnes det også flere eksterne spekterdatabaser der man kan laste opp råspektre fra sitt Maldi-TOF MS system og deretter få en god identifikasjon av mikroben. Disse kan være åpne eller kommersielle, men det er flere pågående prosjekter der ideen er at man skal ha åpne spekterdatabaser på lik linje som med DNA sekvenser. MALDIBANK (<https://maldibank.eu/>) er et EU-prosjekt der det er avsatt betydelige midler for å få til et slikt åpent system. Nylig har det også dukket opp åpne databaser med råspektre der mikroorganismen allerede er identifisert, men hvert spekter er knyttet til andre fenotypiske trekk som f.eks. resistens og/eller virulens. Disse databasene består gjerne av flere hundretusen råspektre. Det er tenkt at slike databaser kan være til hjelp for å utvikle Maldi-TOF MS metoden til å omfatte mer enn identifikasjon til artsnivå.

Produsentene av Maldi-TOF MS systemer til identifisering av mikroorganismer tilbyr både ROU (research use only) og IVD (in vitro diagnostics)-godkjente systemer. Det er som oftest hele systemet som er IVD-godkjent, mens spekterbibliotekene kommer i ulike versjoner. Det er på nåværende tidspunkt usikkert hvordan IVDR vil påvirke dette, og om det vil være krav om at Maldi-TOF MS systemer til identifikasjon av mikroorganismer innen klinisk mikrobiologi må være IVD-godkjent. Spekterbibliotekene til de største produsentene har ikke betydelige forskjeller i antall bakteriearter som finnes i IVD- kontra ROU-bibliotekene, men antall spektre pr. art varierer. IVD-godkjente systemer har gode spekterbibliotek for bruk i de fleste laboratorier innen klinisk mikrobiologi, men man mister fleksibiliteten systemene har for å tilføye nye referansespektre til systemet.

Mulighetene for å produsere og legge til nye referansespektre til sin spekterdatabase krever spesialkompetanse. Til nå er det kun universitetssykehusene som har gjort dette, og stort sett er det gjort som del av prosjekter. Tilføyer man egenproduserte referansespektre til sitt Maldi-TOF MS system vil systemet kunne identifisere enda flere mikroorganismer til artsnivå.

Anbefalinger

Oppbygging av benyttede databaser

Laboratoriene bør kjenne til hvordan MS-databasene de benytter er bygget opp. De bør kjenne til hvilke stammer som er benyttet til å bygge opp databasen, og hvordan stammene er identifisert i utgangspunktet. Helgenomanalyse og ANI sammenligninger betraktes generelt som den beste standarden for identifikasjon, men innenfor en del slekter/grupper er det ikke full konsensus om hvilke prinsipper eller cutoff-verdier som bør benyttes (eksempelvis for den bakteriegruppen som ofte benevnes som «viridansstreptokokker»). En nasjonal arbeidsgruppe for identifikasjon (AFI) skal

primært gi anbefalinger om en nasjonalt gjeldende klinisk nomenklatur, men må i dette arbeidet navigere i de uenigheter av taksonomisk art som eksisterer.

Validering av egenproduserte referansespektre lagt til i integrerte spesiallagde databaser

Ved å tilføye egenproduserte referansespektre til sitt eget system kan man forbedre identifikasjonen i organismegrupper som står svakt i leverandørenes MS databaser. Slike spektre bør produseres etter leverandørenes føringer for å produsere referansespektre («Standard Operating Procedures, SOPs»). De bør lagres utenfor den IVD godkjente databasen i Maldi-TOF MS systemet og bør valideres som «in house» databaser etter IVD regulativet hvis IVDR krever dette. Likeledes bør bruk av interne spesialdatabaser verifiseres på lik linje med «in-house» i IVDR.

Bruk av IVD godkjente systemer vs. bruk av ROU systemer (eksterne databaser)

Det er opp til laboratoriene å bruke godkjente systemer innenfor det til enhver tid gjeldende regelverk og lovgivning for medisinsk teknisk utstyr. Bruk av databaser som ikke er IVD godkjente bør valideres/verifiseres evt. risikovurderes etter gjeldende regelverk og lovgivning for medisinsk teknisk utstyr. En felles valideringsmal for bruk av ROU-systemer til bruk i diagnostikk kan være en god idé, men det bør være opp til laboratoriene selv å utvikle. (Eksempel: For sopp-identifikasjon er publikasjonstatus at MSI 2.0 (som ikke er IVD) presterer bedre, særlig for uvanlige gjærsopp og muggsopp og dermatofytter, sammenliknet med mindre omfattende kommersielle IDV databaser. Ved bruk av IVD primært kan MSI brukes som supplement ved behov).

Spekterbibliotekene oppdateres jevnlig, slik som annen programvare. Oppdaterte programwareversjoner registreres etter laboratorienes eget kvalitetssystem. Nye programwareversjoner og deres styrende dokumenter er tilstrekkelig dokumentasjon.

2. Kvalitetskontroll av Maldi-TOF MS metoden

Bakgrunn

For at Maldi-TOF MS systemet skal kunne produsere spektre som er av god kvalitet og som også er reproducerbare er det avgjørende å ha et kvalitetssystem som påser akkurat dette. I tillegg er det viktig med god og dokumentert opplæring av personen som skal utføre identifikasjon ved hjelp av Maldi-TOF MS.

Anbefalinger

Rutiner for daglig og periodisk kvalitetskontroll

Laboratoriet bør ha et kvalitetssystem som overvåker kvaliteten på identifikasjonene (score-verdi) og som fanger opp avvikende verdier over tid.

Daglig

- Ved bruk av **IVD-metode** følges leverandørens godkjente IVD-arbeidsflyt.
- Ved bruk av **RUO-modus** må man opprette internkontroll med kjent stamme ved (i) hvert oppsett eller (ii) ved bytte av reagenser og plater. Rutiner rundt kvalitetskontroll bør følge prøveflyten når det gjelder antall repetisjoner av oppsett, dyrkingsmedier og alder på kultur.
- Ved bruk av automatisert oppsett benytt (i) daglig kontroll og (ii) kontroll ved skifte av reagenser.

Periodisk

- Benytt leverandørs egen kontroll til kalibrering av instrument ukentlig.
- Periodisk kontroll gjøres med et utvidet panel som dekker et utvalg relevante mikrober. Denne kontrollen danner også datagrunnlaget som skal benyttes ved oppdatering av database og/eller andre softwareendringer.
- Laboratorier bør delta i et eksternt kvalitetsprogram for identifikasjon av mikrober.

Bruk av target plates og negativ kontroll

Engangsplater og flerbruksplater kan brukes. Hvis man bruker flerbruksplater, må negativ kontroll benyttes. Dette som en kontroll på platevask. Plasseringen av den negative kontrollen på platen bør varieres.

Flerbruksplater er ofte dekket med et hydrofobt lag mellom spotene og dette svekkes ved hver vask. Holdbarhet på flerbruksplater varierer, men erfaring har vist at de kan være holdbare i årevis selv ved hyppig rengjøring. Følg leverandørens prosedyrer for vask av flerbruksplater. Leverandøren kan gi et estimat på når flerbruksplater bør erstattes selv om det ikke er gitt en holdbarhetsdato.

Kontrollrutiner ved endringer i database

Følg årlige oppdateringer av spekterbibliotek fra leverandører. Erfaringsmessig blir det tilbudt oppdateringer av spekterbibliotek ved periodisk vedlikehold («PM») fra leverandøren. Ved nye mikrober og endringer av mikrobeavn bør disse kontrolleres mot en valgt referansekilde (f.eks. <https://lpsn.dsmz.de/>), og det bør gjøres en vurdering av om de skal endres eller ikke. Ved endringer bør disse være sporbare.

3. Kvalitet i klinisk svarrapportering

Bakgrunn

Maldi-TOF MS

Denne teknologien har i betydelig grad gitt raskere og mer korrekt identifikasjon. Dermed har den også økt den kliniske relevansen av arbeidet i medisinske mikrobiologiske avdelinger.

Men fremdeles eksisterer det metodologiske ID-utfordringer:

Begge Maldi-TOF MS-instrumenter som brukes i Norge har programmer, hhv. SARAMIS (bioMérieux) og MBT Compass (Bruker), som sammenligner produsert masse-spektrum med spektre i en referansedatabase/et referansespekterbibliotek. På dette grunnlag angis det en sannsynlig identifikasjon. Manglende eller utilfredsstillende identifikasjon må (som før Maldi-TOF MS æraen) vurderes i lys av viktigheten av funnet.

Det er fremdeles begrensninger for visse humanpatogene arter i standard databaser (*Streptococcus pneumoniae*, *Aeromonas spp.*, m.fl.), og erfaringene viser at tross pågående endring og forbedring i databaser, kan Maldi-TOF MS alene ikke anses som en «gullstandard» for all artsidentifikasjon.

Det publiseres jevnlig oppdateringer hvor nye spektre fra nye arter tilføyes, og spektre av bedre kvalitet for allerede inkluderte arter tilføyes og andre fjernes pga. dårlig kvalitet eller usikkert opphav. Det er verdt å merke seg at det også legges inn mikrober i standard databaser med liten klinisk relevans for humanmedisin.

Taksonomi

Taksonomi har mange viktige funksjoner i kommunikasjonen mellom laboratorier, og fra laboratorier til klinikere. Enhetlig taksonomi er en forutsetning for presis og effektiv kommunikasjon mellom mikrobiologiske laboratorier. For både mikrobiologer og klinikere har korrekt taksonomi betydning for å belyse forhold knyttet til epidemiologi, utbruddsoppløring og for oppløring av arters assosiasjon til spesifikke sykdomsbilder.

Taksonomiske endringer representerer også en selvstendig ID-utfordring:

Klinisk adekvat og konsistent svarrapportering utfordres både av mange endringer i produsentenes massespekterdatabaser, og av endringer i taksonomi som nå finner sted i et økende tempo:

Taksonomi kan brytes ned i to hovedfelt; **nomenklatur** (selve navnsettingen) som er strengt regulert - og **klassifikasjon** som ikke er regulert på samme stramme måte.

Nomenklatur og nomenklaturprosessen fra 1970 og framover: Fra 70-tallet har taksonomiske endringer kommet som følge av nye molekylære metoder. I starten vha. DNA-DNA hybridisering som krevde metodologisk spesialkompetanse som satte begrensninger på utviklingshastighet og antall endringer. Seinere kom 16S rDNA og *rpoB* sekvensering, og så ble WGS blitt introdusert som «allemanneie», og antall nye taxa som meldes har vokst eksponentielt. Det er en pågående diskusjon i «nomenklatur-miljøer» om kravene til identifikasjon av nye arter må endres. Veksten i nye taxa kan være praktisk vanskelig å håndtere i en mer klinisk kontekst - både i medisinske mikrobiologiske laboratorier og for klinikere. Nye arter (taxa) kan i dag basere seg på påviste «single strains» (ett påvist isolat), og det er mye oftere ingen informasjon om klinisk betydning ved opprettelse, enn at man har slike opplysninger om en ny art. Det vil likeledes variere hvor mye av endringene som gjennomføres i Maldi-TOF MS systemene og eventuelt (men i enda mindre grad) i andre kommersielle biokjemiske ID-systemer.

Klassifikasjon handler om hvordan mikroorganismer (i vår rapport bakterier og sopp) grupperes i taksonomiske hierarkier, basert på genetiske, biokjemiske eller fenotypiske egenskaper. Med andre ord: det er systemet for å plassere bakterier og sopp i slekter, familier, arter osv. ut fra deres evolusjonære slektenskap. Selv om klassifisering ikke er like stringent regulert som nomenklaturprosessen er, har økt evolusjonær kunnskap og innsikt skapt av nye molekylære metoder drevet fram flere reklassifiseringer og påfølgende navneendringer.

Med bakgrunn i dette må avdelinger med medisinske mikrobiologer som ansvarlige fagpersoner ha et system for å håndtere både (i) databaseendringene i seg selv og (ii) de taksonomiske endringene på en måte som gir en **klinisk konsistent svarrapportering**. Det er i den sammenheng ønskelig at svarrapporteringen nasjonalt harmoniseres. Det er europeiske initiativ på dette området, men dette strategimøtet satte søkelys på muligheten for en nasjonal harmonisering.

Anbefalinger

Nasjonal arbeidsgruppe for identifikasjon:

- I møtet var det enighet om at det bør opprettes en nasjonal gruppe som regelmessig gir anbefalinger om svarrapportering slik at man sikrer en klinisk adekvat, harmonisert og oppdatert nasjonal svarrapportering fra norske kliniske mikrobiologiske avdelinger.
 - Enigheten i møtet var i tråd med resultater fra spørreundersøkelsen som ble sendt ut i forkant av møtet, se vedlegg).
- En nasjonal gruppe for identifikasjon kan bidra til å redusere dette gapet, og gjøre det å oppfylle anbefalingene som er *listet under* noe mindre krevende.
 - Resultatene i spørreundersøkelsen som ble sendt ut i forkant av møtet viste også at selv om Maldi-TOF MS er tatt i bruk i alle de medisinske mikrobiologiske avdelingene i Norge, er det et visst sprik i beskrivelsen av eget kompetansenivå. Grovt sett er grunnleggende teknologi-kompetanse innen massespektrometri større ved universitetssykehus-laboratoriene enn ved de fleste av de mindre laboratoriene.
- Identifikasjon av mikrober er en helt sentral aktivitet for enkeltlaboratorier, og det må forventes at man har godt innsyn i styrker og svakheter ved alle metoder som benyttes til identifisering av bakterier og sopp.

Årlig gjennomgang i forbindelse med biblioteksoppdatering:

Metode for artsidentifikasjon bør være prosedyrefestet:

- Prosedyren skal sikre at relevant laboratoriepersonell gjøres kjent med prestasjon (matching hints (Bruker) for nært beslektede arter, omfang og begrensninger) i ny database.
- Prosedyren skal sikre at relevant laboratoriepersonell gjøres kjent med relevante nye taksonomiske endringer (nomenklatur og/eller reklassifiseringer). Vurderingen av hvilke endringer som kan anses som klinisk relevante kan være et tema for en nasjonal arbeidsgruppe, men en viss konservatisme kan utvises.
 - Se for eksempel Janda 2018, tilpasset tabell1 i sammendraget.
- Prosedyren bør inneholde en systematisk logg over endringer som fortas ved biblioteksoppdateringen.
- Prosedyrens endringer må gjennomføres i LIS/LIMS, og den elektroniske overføring testes. Endringer bør kunne spores (logges).
- Kommunikasjon til klinisk personell: Prosedyren bør inneholde en plan for å varsle leger, sykepleiere og annet medisinsk personale om forestående endringer i svarrapportering. Større endringer bør varsles i forkant (nyhetsbrev, intranett o.l.).

Litteraturgjennomganger for å oppdage **nye taksonomiske endringer** og deres betydning for svarrapporteringen:

- Det er ønskelig at det søkes aktivt og jevnlig i en eller flere databaser etter taksonomiske endringer av klinisk relevante arter.
- Det er ikke lengre tidsskrifter som adresserer taksonomiske endringer systematisk, men noen aktuelle tidsskrifter og nettsider er:

Nettsider	Tidsskrifter
LPSN: https://lpsn.dsmz.de NCBI Taxonomy: : Home - Taxonomy - NCBI IJSEM: https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem	International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology (IJSEM), Systematic and Applied Microbiology, Frontiers in Microbiology,

NamesforLife: https://www.namesforlife.com Release notes fra MALDI-leverandør (f.eks. Bruker, bioMérieux)	Current Microbiology, Clinical Microbiology and Infection (sporadisk) New Microbes and New Infections (sporadisk)
---	---

- En litteraturgjennomgang kan være særlig aktuell i forbindelse med den årlige biblioteksoppdateringen.

Implementering og bruk av ny taksonomi:

- En arbeidsgruppe for identifikasjon (AFI) vil både kunne koordinere og gi selvstendige anbefalinger om implementering og bruk av ny taksonomi og på den måten både lette, forbedre og harmonisere implementering basert på ny litteratur. Klinisk ID-svarrapportering vil naturlig kunne omfatte kommentarer om virulens/sykdomsassociasjon og ev. resistensforhold.
 - Arbeidsgruppens arbeid vil inkorporere innspill fra høringsinstanser:
 - Relevante eksempler: område (instans):
 - overvåkning (NORM), resistens (AFA/Kres) og folkehelse (FHI)).
 - For konkrete forslag til implementering vises det til bakgrunnsdokumentet. AFI har i sitt mandat å gi mer detaljerte anbefalinger om implementering og bruk av ny taksonomi.
 - Generelle forhold omtalt i bakgrunnsdokument og/eller presentasjon: Innføring av nye navn bør generelt være noe konservativ (ikke for rask). Klassifikasjonsendringer er et uregulert område, og man bør derfor forvise seg om at en reklassifisering har generell aksept i det «vitenskapelige miljøet» før man tar den i bruk. Ved overgang til nye navn bør det være en overgangsperiode, hvor både tidligere og nytt navn rapporteres. Periodens varighet bør være minst 1-2 år, og gjerne lenger særlig for mikrober som ikke rapporteres hyppig. (Se også sammendrag 03: Klinisk svarrapportering).
 - AFI vil ventelig komme med sine anbefalinger angående dette. Bruk av kompleks- og gruppe-betegnelser bør være systematisk, og ideelt sett bli ivaretatt av en nasjonalt organisert harmoniserende gruppe (som AFI). (Se sammendrag 03 og kap. 15 i del 1 om opprettelsen av AFI).

Del II Spesielle forhold knyttet til identifikasjon av ulike bakterie- og soppgrupper

Del II omfatter spesielle forhold knyttet til identifikasjon av ulike grupper av bakterier og sopp, med hovedvekt på Maldi-TOF MS. For grupper av mikrober eller arter der andre metoder har en sentral plass og kan være, eller er, nødvendig for tilstrekkelig identifikasjon, er dette nevnt under hvert underkapittel.

Denne delen gir en status etter om lag 10 år med Maldi-TOF MS i norske mikrobiologiske avdelinger og med anbefalinger om identifikasjon i avdelingene. Det vil skje en fortløpende utvikling med behov for oppdateringer både innen metode og klinisk svarrapportering. Både ny klinisk kunnskap og endringer innen databaser og taksonomi (nomenklatur og klassifikasjon) vil være viktige pådrivere for fortløpende og kontinuerlige endringer. Dette vil bli forsøkt ivaretatt i medisinske mikrobiologiske avdelinger i fellesskap gjennom etablering av en nasjonal arbeidsgruppe for identifikasjon (AFI) (se Del V).

4. Aerobe og fakultative bakterier

Bakgrunn

Maldi-TOF MS gir generelt pålitelig identifikasjon for flertallet av aerobe og fakultativt anaerobe bakterier, når man forholder seg til anbefalingene som produsentene har gitt for godkjenning til genus eller artsnivå.

Anbefalinger

Oversikten på de neste sidene viser anbefalinger og kunnskapsgrunnlag for aerobe og fakultativt anaerobe bakterier der identifisering med Maldi-TOF MS er avhengig av supplerende fenotypiske metoder og/eller molekylære metoder for sikker og/eller tilstrekkelig identifikasjon eller diskriminerende artsidentifikasjon.

Oversikten er en statusoversikt, og ev. viktige endringer vil bli anbefalt fortløpende av en nasjonal arbeidsgruppe for identifikasjon (AFI) når denne er etablert:

Bakterier	Supplerende metode	Kliniske forhold	Andre kommentarer
<i>E. coli</i>/ <i>E. fergusonii</i>/ <i>Shigella</i>	Differensiering <i>Shigella</i> /EIEC: Trerørsforgjæring og/eller kommersiell fenotypisk metode (API20E, Vitek el.) kombinert med <i>Shigella</i> -antisera. Feilidentifikasjoner kan forekomme, og molekylære metoder anbefales for endelig avklaring (for eksempel <i>ipaH</i> -gen).	Ved funn utenfor GI-traktus er differensiering kun nødvendig ved klinisk mistanke om GI infeksjon. Ellers rapporteres <i>E. coli</i> .	Identifikasjon av <i>E. fergusonii</i> anses unødvendig, rapporteres som <i>E. coli</i> .
<i>Salmonella species</i>	Serotyping med et utvalg av antisera som kan identifisere tyfoidfeber variantene samt de vanligste non-tyfoid variantene.		Kan kombineres med kommersiell fenotypisk identifikasjon eller utvidet 3-rørs forgjæring, særlig dersom antisera IKKE er tilgjengelig lokalt.
<i>Y. enterocolitica</i>	Anbefalt fenotypisk metode for serotyping er et utvalg av antisera som kan identifisere O:3 og O:9. Stammer med sikker eller uklar patogenisitet sendes FHI.		
<i>Y. pseudotuberculosis</i>	Ingen serotyping lokalt, sende stamme til FHI.		Differensiering av <i>Y. pseudotuberculosis</i> / <i>Y. pestis</i> : Vurder journal og kliniske opplysninger, kontakt kliniker for å be-/avkrefte mistanke om pest. Hvis ikke avkreftet mistanke, kontakt FHI.
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Maldi-TOF MS er tilstrekkelig for identifikasjon.	Fenotypisk differensiering innen <i>K. pneumoniae</i> - kompleks er unødvendig.	Artene kan rapporteres som <i>K. pneumoniae</i> -kompleks.
<i>Klebsiella oxytoca</i>/ <i>K. indiciae</i>/ <i>Raoultella</i>	Maldi-TOF MS er vanligvis tilstrekkelig for identifikasjon. Ved behov for å skille <i>K. oxytoca</i> -kompleks fra <i>Raoultella</i> , suppler med fenotypisk identifikasjon (VITEK2 el.) og vurder resultat	Fenotypisk differensiering innen <i>K. oxytoca</i> - kompleks er unødvendig.	Artene kan rapporteres som <i>K. oxytoca</i> -kompleks. Differensiering av <i>Raoultella</i> fra <i>K. oxytoca</i> -kompleks kan i enkeltstående tilfeller

Bakterier	Supplerende metode	Kliniske forhold	Andre kommentarer
	av enkelttester, ev. suppler med vurdering av ID-score. Kommenter ev. forbehold til artsidentifikasjon i svaret.		være aktuelt ved klinisk viktige problemstillinger og/eller for å avgjøre tilstedeværelse av kromosomal eller plasmidmediert resistens mot 3.generasjons cefalosporiner.
<i>Enterobacter cloacae</i>	Maldi-TOF MS er tilstrekkelig for identifikasjon.	Fenotypisk differensiering innen <i>Enterobacter cloacae</i> - kompleks er unødvendig.	Artene kan rapporteres som <i>Enterobacter cloacae</i> - kompleks.
<i>Serratia species</i>	Maldi-TOF MS er tilstrekkelig for identifikasjon, og for å diskriminere <i>Serratia marcescens</i> - kompleks og <i>Serratia liquefaciens</i> -kompleks.	Fenotypisk differensiering innenfor <i>Serratia marcescens</i> -kompleks eller <i>Serratia liquefaciens</i> - kompleks unødvendig.	Artene kan rapporteres som henholdsvis <i>Serratia marcescens</i> - kompleks og <i>Serratia liquefaciens</i> -kompleks.
<i>Aeromonas spp.</i>	Ingen fenotypisk differensiering er tilgjengelig.		Kan besvares som <i>Aeromonas sp.</i>
<i>N. gonorrhoeae</i>	Maldi-TOF MS er som regel tilstrekkelig for identifikasjon. Det bør generelt være lav terskel for supplerende metoder, særlig ved funn i luftveier.		Mange tilfeller vil uansett ha molekylært påvist <i>N. gonorrhoeae</i> fra samme lokalisasjon.
<i>N. meningitidis</i>	Serogrupping bør gjøres som standard for å skille A, C, Y og W fra B, og andre serogrupper/ikke-typbare stammer. 16S kan gi usikker/ukorrekt identifikasjon for enkelte <i>Neisseria</i> arter siden de er så like. Vurder derfor målrettet PCR ved behov for rask avklaring.	Maldi-TOF MS kan aksepteres som foreløpig identifikasjon, særlig ved alvorlig klinikk og/eller isolat fra blod/spinalvæske. Vurder kliniske opplysninger og kontakt ev. rekvirent for ytterligere	

Bakterier	Supplerende metode	Kliniske forhold	Andre kommentarer
	Ved funn i genitalia vurder mulighet for uretrittassosiert <i>N. meningitidis</i>. Suppler med molekylær testing ved målrettet PCR. Ved funn i andre lokalisasjoner suppler med kommersiell fenotypisk test (f.eks. API-NH) dersom funnet kan ha klinisk relevans	avklaring av klinisk mistanke.	
Andre <i>Neisseria</i> spp.	Maldi-TOF MS kan aksepteres som tilstrekkelig for identifikasjon i hht. produsentanbefalinger i mange tilfeller, men vurder molekylær identifikasjon (16sRNA eller målrettet PCR ved alvorlig klinikk og/eller isolat fra blod/spinalvæske).		
<i>Streptococcus dysgalactiae/S.canis</i>	Fenotypiske tester: Lancefield gruppe C rapporteres som <i>S. dysgalactiae</i> . Ved Lancefield gruppe G, foreta CAMP-test (negativ for <i>S. canis</i> , positiv for <i>S. dysgalactiae</i>).	Vurder behovet for å skille disse klinisk. Nærkontakt med hund? Tilstedeværelse av komplikasjoner: glomerulonefritt, reumatisk feber?	Ved standard Bruker database er det problematisk å skille <i>S. dysgalactiae/S. canis</i> .
<i>Streptococcus pneumoniae</i> og andre viridansstreptokokker	Generelt kan Maldi-TOF MS identifikasjon av viridansstreptokokker, om ønskelig rapporteres på gruppenivå dersom beste score tilhører art innenfor den respektive gruppen. Maldi-TOF MS identifikasjon av andre non-hemolytiske streptokokker kan aksepteres etter produsentens kriterier. <i>S. pneumoniae</i> kan primært identifiseres etter produsentens kriterier. Supplerende identifikasjon gjøres med klassisk morfologi (hvis tilstede) og optochin-følsomhet, og er særlig aktuelt	For tentative <i>S. pneumoniae</i>: Vær særlig observant på luftveisolater med trang optosone og/eller	Kan generelt rapporteres på gruppenivå dersom beste score tilhører art innenfor den respektive gruppen.

Bakterier	Supplerende metode	Kliniske forhold	Andre kommentarer
	ved klinisk viktige isolat og/eller der det utføres resistensbestemmelse. Ytterligere fenotypisk identifikasjon kan gjøres med galleoppløselighetstest ved trang optochin-sone eller utypisk kolonimorfologi og/eller resistensmønster – særlig aktuelt for isolat direkte fra luftveisprøver.	utypisk resistensmønster. Særlig aktuelt for isolat direkte fra luftveisprøver	
<i>Bacillus cereus/B. anthracis</i>	Lokale laboratoriers evne og muligheter til forsvarlig håndtering av identifikasjon varierer og er avhengig av fasiliteter (BSL-2 eller BSL-3). Det bør derfor utføres/være utført en lokal risikovurdering av biosikkerhet ved håndtering av identifikasjonen av disse artene. Vurderingen av risiko i hvert enkelt tilfelle bør ta hensyn til pasientfaktorer (stoffmisbruk, yrke, reise), symptomer og funn, samt antall/type flasker, ev. funn i andre prøvematerialer (for eksempel sårprøve). Følgende scenarier vil typisk foreligge: (i) Kliniker mistenker miltbrann. Vurder håndtering i lab. Hvis mistanken er reell bør prøven håndteres i P3 lab, og FHI varsles på telefon. (ii) Funn av store rette grampositive staver i blodkultur. Vurder ev. revurder kliniske forhold basert på kunnskap om dette funnet. Se anbefalinger kapittel 10. (iii) Funn av non-hemolytiske <i>Bacillus spp.</i> fra sår, vev, abscessinnhold etc. Se anbefalinger kapittel 10. <i>Bacillus anthracis</i> er non-hemolytiske og ubevegelige, men motilitetstest må utføres i P3 lab. Varsling til FHI skal skje ved mistanke om miltbrann.		For andre arter i <i>Bacillus cereus</i> -gruppen (enn <i>B. anthracis</i>) kan disse om ønskelig rapporteres som <i>Bacillus cereus</i> dersom beste score er <i>B. cereus</i> eller annen art i gruppen.

5. Muggsopp

Bakgrunn

Maldi-TOF MS gir raskere svar, mer korrekt identifikasjon og færre feilidentifikasjoner enn tradisjonelle fenotypiske metoder, samt økt mulighet til å skille mellom nært relaterte arter. Korrekt artsidentifikasjon er viktig for å kunne følge internasjonale behandlingsanbefalinger også der det ikke finnes brytningspunkt. Begrensninger er i hovedsak knyttet til innhold i databaser. Det kom ikke noen innvendinger mot foreslåtte anbefalinger på møtet.

Anbefalinger

Identifikasjon med Maldi-TOF MS bør benyttes som et supplement til fenotypisk identifikasjon på:

- Kompliserte og/eller alvorlige infeksjoner der systemisk antimykotika er indisert.
- Isolat som videresendes referanselab.

For dyrkning før identifikasjon anbefales:

- Sabouraud glukose agar med kloramfenikol og gentamicin. Unngå å få med agar ved høsting før ekstraksjon.

For ekstraksjon anbefales:

- Følg leverandørs anbefaling med hensyn til ekstraksjon og plater.
- Full ekstraksjon med etanol, maursyre og acetonnitril er vist å gi best spektra på tvers av databaser. Slik ekstraksjon er dokumentert å drepe sopp, og er per i dag anbefalt metode ved bruk av MSI og Microbenet databaser.
- Dersom forenklet ekstraksjon med maursyre benyttes (extended Direct Transfer) kan man spare tid, og det er mulig å oppnå gode spektra. Men det eksisterer mangler i publiserte data på hvor godt metoden inaktiverer sopp, og laboratorier bør derfor ha rutiner for å benytte full ekstraksjon dersom det er mulighet for identifikasjon av sopp i smitterisikogruppe 3.
- Inokuler alltid minst to spot.

For database og identifikasjon anbefales:

- Identifikasjon med Maldi-TOF MS bør sammenholdes med fenotypisk identifikasjon og klinikk/epidemiologisk informasjon.
- Bruk både kommersiell og offentlig database dersom mulig.
- MSI databasen anbefales da den per i dag inneholder klart flest arter og mange MSP per art, og bør dersom mulig benyttes på kompliserte infeksjoner der presis artsidentifikasjon er viktig for å predikere iboende følsomhet for antimykotika.
- Samsvar mellom databaser styrker sikkerhet til identifikasjon.
- Følg databaseleverandørs anbefalinger med hensyn til cut-off for artsidentifikasjon. Flere studier har vist at Brukers cut-off kan senkes til 1,7 uten at det medfører flere feilidentifikasjoner, men eventuell bruk av andre verdier enn det leverandør anbefaler bør valideres lokalt.
- Vær oppmerksom på begrensninger oppgitt fra leverandør, samt kjente fallgruver/begrensninger med benyttet metode/database.

- Der Maldi-TOF MS ikke skiller godt mellom ulike arter i henhold til leverandørs anbefalinger besvares prøven på genus - eller artskompleks-nivå med mindre en alternativ test gir avklaring.
- Muggsoppisolat fra infeksjoner som krever antimykotisk behandling sendes alltid referanselaboratorium for konfirmasjon.

For besvaring anbefales:

- Følg med på oppdateringer i databasen med hensyn til navneendringer.
- Navn som benyttes i databaser er ikke nødvendigvis det som bør rapporteres til rekvirent, - her bør man følge konsensus for medisinsk viktige sopp som beskrevet i <https://doi.org/10.1128/jcm.00873-23> og oppdatert informasjon på sidene til ISHAM [Nomenclature of Clinical Fungi :: ISHAM](#). I tillegg fins god informasjon i Atlas of clinical fungi sin nomenklatur database [Nomenclature – names – Atlas of Clinical Fungi](#).
- Der nye navn benyttes bør de besvares med referanse til gammelt navn, da disse fortsatt benyttes i mange lærebøker og artikler.
 - *Lomentospora prolificans* (tidligere kjent som *Scedosporium prolificans*).
- Dersom gammelt navn benyttes, bør man også henvise til det nye navnet.
 - *Geotrichum capitatum* (også kjent som *Magnusiomyces capitatus*).

NEQAS EQA for mykologi anbefales som ekstern kvalitetskontroll for identifikasjon og besvaring av muggsoppidentifikasjon.

6. Dermatofytter

Bakgrunn

Korrekt identifikasjon av dermatofytter er særlig viktig der det har klinisk og/eller epidemiologisk konsekvens, og er særlig relevant ved mistanke om zoonotisk agens, ved utbredte /og eller terapi-resistente dermatofyttoser eller ved utbrudd. Maldi-TOF MS gir mulighet for god artsidentifikasjon for de fleste dermatofytter, til dels også innen enkelte artskompleks, forutsatt at on-line database benyttes. Kommersielle databaser har per i dag begrensninger i antall arter og spektra for dermatofytter, og gir oftere feilidentifikasjon. Det kom ikke noen innvendinger mot foreslåtte anbefalinger på møtet.

Anbefalinger

Dyrkning og identifikasjon med Maldi-TOF MS bør benyttes som et supplement til PCR og/eller fenotypisk identifikasjon på:

- Utbredt/uttalt dermatomykose, særlig der det er mistanke om terapivikt/resistens.
- Ved mistenkt smitte fra dyr.
- Ved mistanke om utbrudd.

For dyrkning før identifikasjon anbefales:

- Sabouraud glukose agar (SAB) med kloramfenikol og gentamicin. Unngå å få med agar ved høsting før ekstraksjon.

For ekstraksjon anbefales:

- Følg anbefalinger fra leverandør eller anvendt database.
- Full ekstraksjon med etanoltrinn er vist å gi gode spekter på tvers av databaser, og er anbefalt ved bruk av MSI 2.0 eller MicrobeNet. Etanol sikrer soppdrap.
- Extended direct transfer sparer tid og kan forenkle arbeid. Laboratorier bør gjøre egen risikovurdering dersom forenklet ekstraksjon benyttes.
- Inokuler alltid minst to spot.

For database og identifikasjon anbefales:

- MSI2.0 databasen er vesentlig forbedret for dermatofytter, og med spektra fra kolonier i ulike faser av vekst, og er per i dag bedre enn kommersielle databaser med hensyn til identifikasjon av dermatofytter til arts- eller artskompleks - nivå.
- MSI2.0 databasen har problemer med å skille mellom nært relaterte arter som *T. rubrum*, *T. violaceum* og *T. soudanense*. Supplerende tester kan bidra til sikrere identifikasjon.
- Følg databaseleverandørs anbefalinger med hensyn til cut-off for sikker artsidentifikasjon/ skille fra andre arter og genera.
- Vær klar over begrensninger oppgitt fra leverandør samt kjente fallgruver/ begrensninger med benyttede databaser.

For besvaring anbefales:

- Følg anbefalinger som beskrevet under muggsopp.

NEQAS EQA for mykologi anbefales som ekstern kvalitetskontroll for identifikasjon og besvaring av dermatofytt-identifikasjon.

7. Gjærsopp

Bakgrunn

Korrekt identifikasjon av gjærsopp er av betydning for empirisk valg av soppbehandling. Korrekt artsidentifikasjon er viktig for å kunne følge internasjonale behandlingsanbefalinger også der det ikke finnes brytningspunkt. Maldi-TOF MS kan i stor grad erstatte fenotypisk og biokjemisk identifikasjon av gjærsopp. Det kom ikke noen innvendinger mot foreslåtte anbefalinger på møtet.

Anbefalinger

Identifikasjon med Maldi-TOF MS bør benyttes ved:

- Rutinemetode for identifikasjon av gjærsopp fra alle typer prøvemateriale, og alltid ved funn av gjærsopp i blod eller andre sterile prøvematerialer.
- Identifikasjon av koloniseringsflora hos pasienter på for eksempel intensiv, overvåkning og hematologisk avdeling på grunn av økt risiko for invasiv infeksjon.
- Identifikasjon av *Candida auris* (*Candidozyma auris*).
- Enkel identifikasjon kun med kromogen agar kan være tilstrekkelig ved koloniserende flora hos pasienter som ikke tilhører risikogrupper.
- Sekvensering er aktuelt på invasive isolat der man ikke oppnår sikker identifikasjon med Maldi-TOF MS.

For dyrkning før identifikasjon anbefales:

- Sabouraud glukose/dextrose agar med kloramfenikol og gentamicin er anbefalte medium.
- Kromagar bør alltid benyttes i tillegg ved utsæd fra positiv blodkultur og ved screening for *C. auris*. Kromagar bør også vurderes på prøvematerialer med mulighet for blandingsflora for raskere presumptiv identifikasjon og påvisning av ulike gjærsopparter.
- Identifikasjon med Maldi-TOF MS kan forsøkes også direkte fra kromogent medium.
- Dersom man ikke oppnår god score, må subkultur på anbefalt medium forsøkes.

For ekstraksjon anbefales:

- Følg leverandørs anbefaling med hensyn til ekstraksjon og plater.
- Forenklet ekstraksjon med maursyre som bryter ned celleveggen er som regel nødvendig for å få gode nok spektra.
- Full ekstraksjon med etanol, maursyre og acetonitril anbefales der man ikke kommer til mål med forenklet ekstraksjon, og vil som regel gi bedre scoreverdi.
- Inokuler alltid minst to spot.

For database og identifikasjon anbefales:

- Kommersielle databaser fra Bruker og Vitek fungerer godt for de vanlig forekommende gjærsopp.
- Vurder supplement med alternativ database og/eller sekvensering dersom funn av uvanlig gjærsopp.
- Følg databaseleverandørs anbefalinger med hensyn til cut-off for artsidentifikasjon. Flere studier viser at Brukers cut-off (2,0) kan senkes til $\geq 1,7$ uten at det medfører flere

feilidentifikasjoner, men eventuell bruk av andre verdier enn leverandør anbefaler bør valideres lokalt.

- Vær klar over begrensninger oppgitt fra leverandør samt kjente fallgruver/ begrensninger med benyttede metoder/databaser

For besvaring anbefales:

- Følg anbefalinger som beskrevet under muggsopp.

NEQAS EQA for mykologi anbefales som ekstern kvalitetskontroll for identifikasjon og besvaring av gjærsoppidentifikasjon

8. Mykobakterier

Bakgrunn

Det vises til rapport fra strategimøte 2016 om Mykobakteriediagnostikk. Dette innlegget er her oppdatert med et hovedfokus på identifikasjon med Maldi-TOF MS, og tar utgangspunkt i Bruker Daltonics og Biomerieux sine systemer.

Anbefalinger

Identifikasjon av hurtigvoksende mykobakterier

Ved mistanke om hurtigvoksende mykobakterier bør en utføre identifikasjon ved eget laboratorium, samarbeidende lab eller referanselab innen rimelig tid: avhengig av pasientens tilstand og hvordan den klinisk relevans vurderes, og hva slags prøvemateriale som er mottatt. Maldi-TOF MS er en godt egnet metode for identifikasjon av hurtigvoksende mykobakterier både fra fast medium og fra flytende medium. Det er noe variasjon på grad av identifikasjon mellom ulike Maldi-TOF MS systemer, der noen systemer identifiserer til gruppe-/artskompleksnivå og andre til artsnivå.

Identifikasjon av *M. tuberculosis* kompleks (MTBC) og langsomtvoksende NTM

Ved selektiv dyrkning for mykobakterier er det viktig med rask avklaring om det er tuberkulosebakterier som vokser. Maldi-TOF MS kan identifisere MTBC til artskompleks-nivå, men det bør være opptil hvert enkelt laboratorium å avgjøre om man vil gjøre dette som rutine. MPT64 antigen test sammen med mikroskopi eller en NAAT test vil raskt kunne vise om det dreier seg om tuberkulosebakterier.

Det eksisterer en viss grad av variasjon på identifikasjonen som oppnås ved bruk av ulike Maldi-TOF MS systemer ettersom noen systemer identifiserer til gruppe-/artskompleksnivå og andre til artsnivå. Viser til punktet over for andre metoder for identifikasjon av MTBC og for NTM.

9. Anaerober

Bakgrunn

Medisinsk-mikrobiologiske laboratorier bør kunne identifisere de viktigste gruppene anaerobe bakterier som gir sykdom. Anaerobe infeksjoner er ofte polymikrobielle og behandles ofte empirisk. Det blir derfor spesielt viktig å identifisere arter som kan ha uforutsigbart resistensmønster og disse bør resistensbestemmes. Disse sammenfaller i stor grad med artene som har kliniske brytningspunkter fra EUCAST (*Bacteroides* spp., *Prevotella* spp., *Fusobacterium necrophorum*, *Clostridium perfringens*, *Cutibacterium acnes* og *Clostridioides difficile*). Fakultativt anaerobe arter som vokser best anaerobt (f.eks. *Actinomyces*, *Lactobacillus*, *Actinotignum* m.fl.) er det også viktig å identifisere ettersom empirisk behandling med metronidazol da ikke vil være egnet. For øvrige anaerober er det også ønskelig med identifikasjon til artsnivå, spesielt ved alvorlige infeksjoner, funn i renkultur eller fra normalt sterile områder, eller ved manglende effekt av empirisk behandling. Identifikasjon til slektsnivå eller grovidentifikasjon (f.eks. anaerobe gram positive kokker) kan være tilstrekkelig i noen tilfeller.

Anbefalinger

Om bruk av Maldi-TOF MS til identifisering av anaerober

- Maldi-TOF MS er nå generelt godt egnet som hovedmetode for identifikasjon av klinisk relevante anaerober.
 - I de tilfellene man ikke kommer i mål med Maldi-TOF MS eller biokjemiske systemer, vil man måtte gjøre en avveining av om det er behov for sikker artsidentifikasjon med sekvensering, eller om det kan gjøres en enkel grovidentifikasjon til slekts-/gruppenivå.
 - Den viktigste enkeltfaktoren med betydning for graden av vellykket identifikasjon er kvaliteten på referansedatabasen.
 - Bruk av «on plate» ekstraksjon med maursyre anbefales, spesielt for gram positive anaerober, fusobakterier og saktevoksende arter. For disse artene anbefales det videre å inokulere minst to spot. Identifikasjon med score $\geq 1,8$ kan regnes som sikker til artsnivå forutsatt at øvrige konsistenskrav er tilfredsstilt.
 - Anaerober kan identifiseres med Maldi-TOF MS direkte fra positive blodkulturflasker og laboratoriet bør da validere en tilpasset cut-off for godkjent identifikasjon.

Om håndtering av taksonomiendringer og spesielle forhold knyttet til slekten *Bacterioides*

- Over de siste tiårene har taksonomien til en del viktige anaerobe slekter blitt revidert på bakgrunn av helgenomdata.
- Laboratoriene bør holde seg oppdatert på taksonomiendringer for *Bacterioides* der det har vært gjennomført endringer de seinere årene, og ytterligere endringer er ventet (se sammendrag).
- Ved oppdatering av databaser må følgeskrivet gjennomgås for å se etter endringer som kan påvirke bruken av Maldi-TOF MS i rutinen.

- Arter som er kjent å være vanskelige å skille med Maldi-TOF MS bør besvares konsistent; herunder noen arter fra slekten *Bacteroides*.
 - Noen arter i *B. fragilis*-gruppen er nært beslektet og kan ikke sikkert skilles med Maldi-TOF MS. Man bør derfor ha en strategi for konsistent svarrapportering. Man må være oppmerksom på at strategien kan måtte revurderes p.g.a. databaseoppdateringer.
- Arten *Bacteroides fragilis* vil i fremtiden trolig bli skilt i to forskjellige arter.

Om identifikasjon av *Clostridium botulinum*

- Bakteriologisk dyrkning inngår ikke vanligvis i diagnostikken, men kan forekomme ved at man får vevsprøver fra pasienter med sårbotulisme. Det vil da være *Clostridium botulinum* biogruppe I, med optimal veksttemperatur rundt 37 grader som er mest aktuell. *Clostridium botulinum* biogruppe I og *C. sporogenes* er nært beslektet, og kan ikke sikkert skilles fra hverandre med Maldi-TOF MS ved standard bruk.
- Ved reell mistanke om *C. botulinum* må det gjøres PCR for botulinumtoksingen, alternativt helgenomsekvensering.

Del III Spesialtemaer

Del III inneholder omtale av noen spesielle temaer knyttet til

- (i) biosikkerhet,*
- (ii) identifikasjon når Maldi-TOF MS er utilgjengelig og*
- (iii) generelle forhold knyttet til nukleinsyrebaserte-baserte metoders rolle innen identifikasjon til artsnivå (ikke til typing).*

10. Biosikkerhet når Maldi-TOF MS benyttes til identifikasjon

Bakgrunn

Laboratorier er av Arbeidstilsynet definert som risikofylte arbeidsplasser, som krever tiltak for å beskytte arbeidstakerne. Risiko på mikrobiologiske laboratorier er knyttet til både eksponering mot kjemikaler og mikroorganismer.

Arbeidstilsynet definerer videre at en skal unngå at det dannes aerosoler av smittematerialet, og hvis det er risiko for aerosoler skal arbeidet foregå i avtrekksskap eller sikkerhetskabinett.

Smitterisikogrupper er forskriftsfestet, men *N. meningitidis*, som tilhører smitterisikogruppe 2 (RG2), blir i denne sammenhengen omtalt som en høyrisikomikrobe som bør håndteres i et sikkerhetskabinett.

Det er foreløpig ikke mye data på sikkerhet i forbindelse med nye metoder for identifisering, dette gjelder også Maldi-Tof MS. Man baserer seg i stor grad på erfaringer med høyrisikomikrober man har fra tidligere.

Anbefalinger

- **Om risikovurdering:**
 - o Ved identifikasjon med Maldi-TOF MS bør laboratoriene gjøre en nøye risikovurdering om forarbeid med ukjente mikrober bør gjøres i sikkerhetsbenk klasse II.
 - o For mikrober der man er ganske sikre på at de tilhører RG2 kan arbeidet gjøres på benk (f.eks. Enterobacterales, stafylokokker, streptokokker, mm.). Unntak for visse mer virulente mikrober tilhørende RG2, som f.eks. meningokokker og tarmpatogene bakterier som uansett bør håndteres i avtrekk.
 - o Dersom man ikke undersøker alle prøver i sikkerhetskabinett, bør man vurdere bruk av personlig sikkerhetsutstyr.
- **Om ekstraksjon:**
 - o Ekstraksjon med etanol og maursyre bør benyttes på isolater man mistenker kan tilhøre smitterisikogruppe 3 (RG3) eller andre høyrisikomikrober.
- **Om databaser:**
 - o Laboratorier som har Maldi-TOF MS fra Bruker bør ha tilgang til bioterror-databasen (SR-databasen).
- **Prosedyrer:**
 - o Alle laboratorier bør ha en prosedyre for hva man gjør dersom man finner en høypatogen mikrobe, dette inkludert når det kan være behov for profylakse ved eksponering.
 - o Der det finnes vaksiner bør laboratoriene tilby dette til alle som i sitt arbeid, også med ukjent materiale, kan tenkes å bli utsatt for dette agens.
- **Biosikkerhet ved bruk av Maldi-TOF MS for blodkulturer og oppvekstkulturer:**

1. Direkte Maldi-TOF MS fra blodkultur

Håndtering av blodkulturer er omtalt i Strategirapport: Diagnostikk av blodkultur. Alt arbeid frem til fullstendig inaktivering skal utføres i sikkerhetsbenk klasse II. Dette inkluderer åpning av flasker, pipettering, ekstraksjon, sentrifugering og avfallshåndtering.

Gramfunn som krever skjerpet biosikkerhet:

A. Store, rette grampositive staver (mistenkt *Bacillus anthracis*)

Direkte Maldi- TOF MS identifikasjon skal ikke gjøres før det har vært utført en god risikovurdering. Ved minste tvil bør medisinsk mikrobiolog (lege) konfereres.

- pasientfaktorer (reise, yrke, stoffmisbruk og eksponering)
- symptomer og kliniske funn
- antall positive flasker og flasketyper
- funn i andre prøver (for eksempel sårprøver, molekyllære tester)
- dialog med kliniker ved behov

Praktisk håndtering:

- Unngå direkte Maldi-TOF MS før risiko er avklart: Ved høy risiko/sannsynlighet for *B. anthracis* skal videre arbeid foregå i BSL3 laboratorium -> konferer mikrobiologisk beredskapsvakt ved Folkehelseinstituttet.
- Hvis utsæd utføres (fordi *B. anthracis* vurderes som lite/mindre sannsynlig): Utfør utsæd på skåler som forsegles med parafilm/tape.
 - Vurder hemolyse og penicillinsensitivitet neste dag: Non-hemolytisk *Bacillus* med relevant klinikk → konferer Folkehelseinstituttet (FHI).
 - Ved mulig *B. anthracis* skal videre arbeid foregå i BSL3 laboratorium.

Caseeksempel:

- Én positiv flaske med grampositive store, rette staver hos injeksjonsmisbruker → ofte kontaminasjon. Det kan være forsvarligst å avvente hemolysevurdering før videre prosessering.

B. Små gramnegative staver (*Francisella tularensis*, *Brucella spp.*) og andre gramnegative staver med biosikkerhetsrisiko (*Burkholderia pseudomallei/mallei*)

Tiltak før inaktivering:

- Vurder sykehistorie (reise, dyrekontakt, aerosoler) og tid til oppvekst.
- Alt arbeid frem til inaktivering utføres i sikkerhetsbenk klasse II, men ved relevant klinikk bør BSL3 fasiliteter vurderes.

Inaktivering av prøvematerialet utføres i sikkerhetsbenk klasse II ved bruk av etanol, maursyre og acetonitril.

Tiltak etter inaktivering:

- Maldi-TOF MS kan først utføres når fullstendig inaktivering er gjennomført, og det skal benyttes en Maldi database som inkluderer høyrisiko agens (påslått SR database for Maldi-TOF MS fra Bruker).
- Selve Maldi-instrumentet kan stå utenfor inneslutning, forutsatt korrekt inaktivering.

2. Maldi-TOF MS fra oppvekstkultur (agarskåler)

A. Non-hemolytisk *Bacillus* (mulig *Bacillus anthracis*)

- Maldi-TOF MS skal ikke utføres før klinisk risiko er vurdert.
- Pretest sannsynlighet vurderes basert på sykehistorie, epidemiologi og klinikk.
- Mistenkt anthrax → FHI kontaktes.
- Ved klinisk mistanke og non-hemolyse skal videre arbeid foregå i BSL3 laboratorium.

B. Mulig *Francisella spp.*, *Brucella spp.*, *Burkholderia pseudomallei/mallei*

- Primært håndteres disse i BSL3 laboratorium.
 - Referanselaboratoriet kan bistå med primærdiagnostikk.
 - Maldi-TOF MS kan utføres etter følgende forutsetninger:
 - o Inaktivering er gjort i sikkerhetsbenk klasse II med etanol, maursyre og acetonitril, etter et validert oppsett for høypatogene agens
 - o Maldi-TOF MS instrumentet kan stå i vanlig rom.
- En utvidet MALDI database for høyrisiko organismer brukes.

C. Meningokokker (*Neisseria meningitidis*)

- Meningokokker er RG2 agens.
- Alt arbeid før ekstraksjon utføres i sikkerhetsbenk klasse II.
- Standard Maldi-TOF MS ekstraksjon (maursyre + acetonitril) er tilstrekkelig.
- Etanol er ikke nødvendig og ikke del av anbefalt protokoll.

11. Identifikasjon når Maldi-TOF MS er utilgjengelig

Anbefalinger

- Alle laboratorier bør ha minst to Maldi-TOF MS instrumenter, slik at man har en back-up dersom det ene instrumentet skulle få driftsstans.
- Alle laboratorier bør ha en plan/prosedyre for håndtering av prøver i tilfelle Maldi-TOF MS ikke er tilgjengelig, basert på hva man har tilgjengelig av identifikasjonstester ved sitt laboratorium og hva de ulike laboratoriene har i beredskap. Faktorer som påvirker denne beredskapen vil være pris/kostnader, ID-instrumentering, holdbarhet på reagenser, ID-kompetanse, avstand til alternativt laboratorium, ol.

Spesifikke anbefalinger knyttet til ulike prøvematerialer når Maldi-TOF MS er utilgjengelig:

- URINPRØVER
 - Bruk av kromogene agarskåler til identifikasjon kan anses tilstrekkelig for polikliniske prøver, og for inneliggende pasienter med ukomplisert UVI.
 - Laboratorier som benytter laktoseskål eller MacConkey kan besvare laktosepositive *E. coli* ut fra fenotypi. For øvrige gram-negative staver anbefales 3-rørsforgjæring. Vurder om salmonella-agglutinasjon skal utføres på laktose-negative, H₂S-positive bakterier.
 - For enterokokker anbefales PYR-test, sulfa- og tellurlapp.
 - For å påvise gruppe B-streptokokker anbefales agglutinasjonstest. Selektiv kromogen agar kan vurderes for gravide.
- POSITIVE BLODKULTURER OG SPINALVÆSKE
 - Mikroskopi av grampreparat utføres for rask presumptiv diagnostikk.
 - Ved funn av gram-positive kokker i kjeder eller diplo, anbefales streptokokk- og/eller pneumokokk-agglutinasjon. Alternativt kan spesifikk PCR for f.eks GAS, GBS osv. benyttes.
 - Meningokokk-agglutinasjon bør utføres ved funn av gram-negative diplokokker. Alternativt kan spesifikk PCR for meningokokker og eventuelt kapseltype benyttes. Koagulase kan benyttes ved funn av gram-positive kokker i hauger.
 - Spesifikk PCR for andre bakterier, som *H.i nfluenzae* og *Listeria* kan benyttes etter vurdering av gram-preparat og klinikk.
 - Kommersielle ID-systemer bør bekrefte presumptiv identifikasjon, men krever vekst på skål.
 - Ved tilgang til genteknologiske tester med brede blodkultur- eller CNS panel, kan disse benyttes for alvorlig syke pasienter.
- PUSS- OG SÅRPRØVER
 - For polikliniske prøver er det tilstrekkelig med agglutinasjonstester for identifikasjon av beta-hemolytiske streptokokker og *Staphylococcus aureus*, eventuelt koagulase i tillegg. Hvis behov for diagnostikk av enterokokker og gram-negative staver, foreslås diagnostiske lapper og 3-rørsforgjæring.
 - Dype- eller peroperative prøver: Foreløpig svar gis ut fra mikroskopi og eventuelt agglutinasjon. Det bør utføres biokjemisk identifikasjon.

- Sårprøver fra inneliggende pasienter: Kan behandles som polikliniske prøver ved mindre alvorlig infeksjon. Ved alvorlig infeksjon følges opplegg som for dype prøver.
- **LUFTVEISPRØVER**
 - For diagnostikk av de vanlige luftveispatogene bakteriene, vil en kombinasjon av agglutinasjon, oksidase og diagnostiske lapper oftest være tilstrekkelig.
 - Ved behov for identifikasjon av andre mikrober (intensivpasienter, immunsupprimerte etc.), er biokjemiske ID-systemer aktuelle. Genteknologiske tester for luftveisprøver med brede bakteriepanel vil gi raskere diagnostikk for denne pasientgruppen.

Spesifikke anbefalinger om SOPPDIAGNOSTIKK

- Ved ukomplisert, overfladisk soppinfeksjon kan vekst av gjærsopp svares ut fra fenotypi på sabouraud-agar, eventuelt med tillegg av våtpreparat.
- Identifikasjon med kromogen agar kan være tilstrekkelig ved mindre alvorlige gjærsopp-infeksjoner.
- For alvorlige og systemiske soppinfeksjoner må videre diagnostikk utføres. Aktuelle tester kan være:
 - For gjærsopp: inkubering ved ulike temperaturer, kimrørtest, biokjemiske identifikasjonssystemer.
 - For muggsopp: morfologisk identifikasjon med mikroskopi.Det henvises ellers til Strategirapport om soppinfeksjoner, 2013.

Spesifikke anbefalinger om diagnostikk av ANAEROBE BAKTERIER

- Mange anaerobe infeksjoner er polymikrobielle, og artsidentifikasjon er ofte av mindre betydning. Ved monokultur og vekst fra sterile områder, dype abscesser og nekrotiserende bløtvevsinfeksjoner, bør det tilstrebes identifikasjon.
- Spredning aerobt og anaerobt skiller fakultative mikrober fra strikt anaerobe. Metronidazol-lapp kan være nyttig.
- Gram-preparat, koloniutseende (sverming, hemolyse) og vekst på selektiv agar (f.eks BBE-agar) må vurderes. Kommersielle ID-systemer basert på biokjemi kan utføres.

Anbefaling om laboratoriesikkerhet ved anvendelse av basale tester:

- **Katalase** er en rask, enkel og billig basalttest som er aerosoldannende. Den må derfor utføres i sikkerhetskabinett med lukket petriskål på grunn av risiko for laboratoriesmitte.

12. Rollen til nukleinsyrebasert identifikasjon

Anbefalinger

Om indikasjoner for nukleinsyrebasert identifikasjon:

- For de aller fleste kliniske problemstillinger vil Maldi-TOF MS gi tilstrekkelig god identifikasjon.
- Supplerende diagnostikk som nukleinsyrebasert identifikasjon er klinisk relevant primært dersom Maldi-TOF MS ikke gir et godkjent svar innenfor det man for det aktuelle isolat mener er det nødvendige taksonomiske nivå (arts-nivå, arts-gruppe nivå eller genus nivå). Nivået bør hensynta kliniske forhold.

Del IV Identifikasjon direkte fra materiale

Del IV omtaler identifikasjon direkte fra et prøvemateriale. Kun identifikasjon direkte fra blodkultur ble omtalt på Strategimøtet.

13. Identifikasjon direkte fra positiv blodkulturflaske

Anbefalinger

- Identifikasjon av bakterier direkte fra blodkulturflasker ved hjelp av Maldi-TOF MS har betydning for valg av antibiotikabehandling hos pasienter med sepsis, og kan dessuten ha en rolle i pasientutredning og for antibiotika-styring.
 - Det anbefales derfor at identifikasjon av bakterier direkte fra blodkulturflasker ved hjelp av Maldi-TOF MS tas i bruk som en del av diagnostisk rutine ved alle mikrobiologiske laboratorier som er primærlaboratorium for slik diagnostikk.
- To Maldi-TOF MS instrument-systemer myntet på medisinsk-mikrobiologiske laboratorier er markedsført i Norge per nå: Maldi-TOF MS biotyper® fra Bruker som benytter databasen MTB Compass og VITEK® MS fra bioMérieux som benytter databasen Saramis®.
 - Begge instrumenter kan benyttes til identifikasjon direkte fra positive blodkulturflasker.
- Begge instrumenter har utviklet kommersielle kits, hhv. Sepsityper kit fra Bruker Daltonics, og VITEK MS blodkultur kit fra bioMérieux, som kan benyttes til identifikasjon direkte fra blodkultur. Det er også mulig å kombinere *in-house* utviklede metoder med begge instrumenter.
 - Det er per nå ikke så betydelige kvalitetsmessige forskjeller at det er grunnlag for klare anbefalinger om å benytte enten kommersielle eller *in-house* utviklede metoder.
- **Tolking av resultater direkte fra blodkultur:**
 - Maldi Biotyper® fra Bruker Daltonics:
 - Det finnes ikke en standardisert anbefaling for vurdering av score-verdier som oppnås ved direkte identifikasjon:
 - (i) Ved bruk av MBT IVD Sepsityper Modul inkludert i Compass programvare på MALDI Biotyper® (Bruker, Daltonics) bør produsentens anbefalinger følges ved tolkning av resultater direkte fra blodkulturflasker.
 - Her er art/genus-score-grensene satt lavere enn ved bruk av Standard Biotyper avlesning, dvs. >1,8 for sikker identifikasjon til artsnivå og >1,6 til genus nivå, som er en tilpasning knyttet til direkte identifikasjon.
 - (iia) Ved bruk av *in-house* basert metode er et alternativ å bruke Standard Biotyper avlesning for bakterie-kolonier, og tolke resultatene med Bruker sine anbefalte klassifikasjonskriterier for sikker identifikasjon til art- (>2,0) eller genus-nivå (>1,7- <2,0), samt for ingen identifikasjon (<1,7).
 - (iib) Et annet alternativ er å vurdere resultater med lavere score-verdier enn de som er som angitt for MBT IVD Sepsityper.
 - Dette er utprøvd i flere studier med *in-house* metoder, og tolkning av resultater med score verdier <1,7 kan gi pålitelige identifikasjoner samsvarende med endelig Maldi-TOF MS resultater fra kolonier. Senkning av score-verdier til >1,5 eller >1,6 for sikkert genus og >1,7

eller >1,8 for sikker artsidentifikasjon har generelt nesten ikke gitt feilidentifikasjoner (se Tabell 1 i sammendraget).

- Sannsynligheten for riktig identifikasjon er enda større hvis man inkluderer en konsistens-regel om at minst tre eller fire av de først foreslåtte identifikasjoner fra topp 10 forslag på ett spot viser samme art.
- Ved bruk av lavere score-grenser bør dette som hovedregel angis som et foreløpige svar (angitt med usikkerhet etter individuell vurdering), og deretter repeteres fra kolonier hvor dette svaret inngår i endelig svarrapportering.
 - Ved passende klinisk bilde, >1,7-2,0 og konsistens mellom 4 øverste 10 på topp (10-rank) vil det likevel neppe være behov for å repetere funnet fra koloni, mens ev. ytterligere tolkningsregler skjer etter lokal vurdering av dokumentasjon, kompetanse og erfaring.
- Det bør være etablert et system for loggføring av diskrepante resultater (mellom direkte- og koloni-generert identifikasjon), og dette bør vurderes regelmessig (for eksempel årlig) som en del av lokal kvalitetssikring av metoden.
- Vitek MS® fra bioMérieux:
 - (i) For tolkning av resultater ved bruk av VITEK MS RUO kit med SARAMIS database fra *bioMérieux* gjøres en vurdering av funn i forhold til konsistens-samsvar («confidence match») med referansespektrum.
 - Laboratorier som vurderer innkjøp av VITEK MS bør være kjent med at faste anbefalinger for tolkning av resultater ikke er satt opp fra produsenten, og derfor bør etableres av brukeren selv.
 - (ii) Ved bruk av Vitek MS IVD/CE databasen kan tolkningen gjøres av VITEK MS systemet: Da angis det en % sannsynlighet for korrekt ID, og en fargekode som indikerer sikkerheten av funnet.
- **Biosikkerhet ved bruk av Maldi-Tof MS direkte fra blodkultur.**
 - Se anbefalinger kapittel 4 og 10.

Del V Framtidig bruk av Maldi-TOF MS, og opprettelse av en nasjonal Arbeidsgruppe for identifikasjon (AFI-gruppen)

Del V omtaler (i) framtidig bruk av Maldi-TOF MS, og (ii) mandatet gitt av møtet for veien videre for opprettelse av en arbeidsgruppe som skal jobbe kontinuerlig med metodespørsmål og spørsmål knyttet til klinisk svarrapportering – en AFI-gruppe (Arbeidsgruppe for Identifikasjon).

14. Framtidig bruk av Maldi-TOF MS

Bakgrunn

Bruk av Maldi-TOF MS til identifikasjon av mikroorganismer har vært en revolusjon i medisinsk mikrobiologi. Videreutvikling av teknologien vil avhenge av hvilke data vi har behov for ved de mikrobiologiske laboratoriene og kostnadene knyttet til fremskaffelsen av disse data.

Det vil være behov for å raskt gjenkjenne sykdomsfremkallende mikroorganismer, gjerne med spesifikke resistens- og virulensmarkører. Det vil også være behov for artsidentifikasjon på stammenivå. Dette er data vi har behov for nå for å kunne tilfredsstille laboratorienes kjerneoppgaver; diagnostikk, smittevern og overvåkning. Videre kan det være at det i nær fremtid kan være behov for å karakterisere mikrobenes egenskaper nærmere og deres interaksjon med humane celler eller eksternt miljø. Her kan metabolemikk basert på Maldi-TOF MS spille en sentral rolle.

Maldi-TOF MS har et stort ubenyttet potensial. Spektrene som produseres inneholder mer data enn det vi benytter i dag. Maskinlæring og kunstig intelligens kan tilgjengeliggjøre disse data. Likeledes kan utvidelse og konstruksjon av større MS databaser gi oss mer data.

Sentrale punkter i den videre utviklingen av Maldi-TOF MS teknologien:

- Flere leverandører av Maldi-TOF MS systemer med ulike egenskaper.
- De større selskapene vil IVD godkjenne alle prosesser rundt deres produkt slik at brukere blir mer bundet til en leverandør og låste systemer.
- Utvikling av nettbaserte databaser som ligner NCBI sine genomdatabaser basert på både proteiner, lipider, og muligens også andre biomolekyler.
- Bruk av maskinlæring og kunstig intelligens for å tilgjengeliggjøre data som ligger i spektrene, men som vi ikke benytter nå.
- Maldi-TOF MS rolle i persontilpasset medisin dvs. i grensesnittet mellom mikrobiologi og patologi. Her kan MALDI Imaging spille en sentral rolle ved å visualisere samspill mellom mikroorganismer og humane celler.

Anbefalinger

IVDR vil påvirke Maldi-TOF MS til klinisk bruk

- IVDR vil påvirke alle deler av diagnostisk virksomhet, også bruk av Maldi-TOF MS. Det er derfor viktig å sette seg inn i hvordan IVDR vil påvirke bruken av Maldi-TOF MS til diagnostikk.

Bruk av Maskinlæring/Kunstig intelligens

- Laboratoriene bør vurdere behovet for å heve sin kompetanse på og investeringer i metoder og algoritmer for maskinlæring/kunstig intelligens som kan brukes i diagnostikk.

Nyere Maldi-TOF MS teknologi

- Laboratoriene, i særlig grad de større laboratoriene, bør følge utviklingen av Maldi-TOF MS baserte metoder som f.eks. nukleotid Maldi-TOF MS, MALDI Imaging og Lipidprofilering.

15. Opprettelse av nasjonal Arbeidsgruppe for identifikasjon (AFI)

- Identifikasjon og resistensbestemmelse er begge tverrgående funksjoner i mikrobiologiske avdelinger som griper inn i diagnostikk uavhengig av infeksjonstype. Resistensbestemmelsen har i lang tid vært harmonisert nasjonalt gjennom anbefalinger og opplæring fra AFA (Antibiotikagruppen for antibiotikaspørsmål og metoder for resistensbestemmelse) som jobber kontinuerlig med antibiotikaspørsmål og metodeoppdateringer innen resistensbestemmelse. En nasjonal gruppe med formål å harmonisere spørsmål angående identifikasjon inkludert metoderelaterte spørsmål har ikke eksistert.
- En slik arbeidsgruppe kunne jobbe for å spre kunnskap og harmonisere enkeltlaboratoriens tilnærming til taksonomi, nomenklatur og svarrapportering (gi anbefalinger). En rekke taksonomiske endringer i nomenklatur skjer fortløpende, og det vil derfor være et kontinuerlig pågående arbeid.
- Metode- og kvalitetsspørsmål kunne også være oppgaver for en slik gruppe: kurering av viktige massespekter databaser, intern opplæring av og informasjon til personell som utfører identifikasjonsarbeid, systemer for dialog og informasjon til rekvirenter, ensartede kvalitetsstandarder for benyttede identifikasjonsmetoder (primært for Maldi-TOF MS), ev. også minstekrav til laboratoriene for å utføre identifikasjonsarbeid (eks, anbefalinger om back-up), ev. biosikkerhet-spørsmål knyttet til identifikasjonsarbeid.

Saksgang med anbefalinger fram til årsmøtet i Nasjonalt forum for med mikrobiologi, FHI 5.des.2024

- Opprettelsen av en Arbeidsgruppe for identifikasjon ble fremmet av programkomiteen for møtet.
- I Strategimøtet var det ved avstemming blant representantene i møtet en enstemmig tilslutning om et ønske om å etablere en slik gruppe.
- Programkomiteen fikk også enstemmig tilslutning i møtet til å utarbeide et forslag til mandat for gruppen og prinsipper for sammensetning av en slik gruppe som kunne tas videre i Nasjonalt forum for å hente faglig støtte og forankring der.
- I møtet i Nasjonalt forum for medisinsk mikrobiologi ved FHI (5. Des 2024) ble det presentert et fremlegg om saken (vedlagt), og fremlegget ble diskutert slik det framkommer i referat (vedlagt).
 - Sammensetning av AFI ble diskutert i Forum: Bl.a. foreslått 4 medisinske mikrobiologer, 1 mikrobiolog/bioinformatiker, 1 bioingeniør. Ved behov vil man kunne knytte til seg medlemmer/hospitanter/observatører/klinikere med spesialkompetanse. Minst ett medlem bør komme fra et ikke-universitetslaboratorium for å ivareta disse laboratoriens perspektiv. Det bør bestrebes geografisk representasjon fra alle helseregioner.
- Oppnevningstid bør være 4 år med mulighet til forlengelse.
 - Det bør jobbes mot at medlemmer utnevnes etter modell fra AFA.
- Forslag til Mandat:
 - Arbeidsgruppen skal arbeide kontinuerlig og gi årlige anbefalinger om viktige endringer innen taksonomi og nomenklatur som bør gjennomføres i laboratoriene, og videre gi anbefalinger for en enhetlig klinisk svarrapportering (for eksempel art/sub-art/artskompleks). I tillegg til å være enhetlig på mikrobenivå, kan det være relevant å

harmonisere klinisk kommentering som gjelder virulens/assosiert klinisk tilstand/syndrom og iboende/assosiert resistens (dette siste naturlig i samarbeid med AFA). Arbeidsgruppen skal vurdere mulighet for og hensiktsmessigheten av ytterligere oppgaver. Eksempler kan være kvalitetssikringsstandarter, håndtering av IVDR, opplæring av spesifikke metodeforhold, håndtering av databaser som ikke er standarddatabaser fra leverandør, bruk av ikke-kommersielle databaser, generering og bruk av egengenererte spektre mm. Arbeidsgruppen bør samarbeide med relevante aktører gjennom høringer (f.eks. overvåkningssystemer, eks. NORM) og AFA. Svarrapportering på artsnivå gir muligheter for en rekke artsspesifikke kliniske kommentarer (assosiert sykdom og resistens) og tilnærmingen bør ikke kollidere med en gitt overvåkningspraksis.

- Nasjonalt forum støttet enstemmig mandatet (19 stemmer).
 - Under møtet ble det besluttet at AFI inntil videre ligger under Nasjonalt forum som midlertidig underutvalg. Fremdrift presenteres på neste møte i Nasjonalt forum (desember 2025).
- Nasjonalt forum ba om at medlemmer oppnevnes i en oppstartsgruppe, og at reisevirksomhet støttes (fra HFene som har medlemmer i gruppen) (min anmerkning, S. Tofteland).

Statusoppdatering basert på presentasjon fra leder i AFI på årsmøtet i Nasjonalt forum for med. mikrobiologi, FHI 3.des.2025

- Det ble i Årsmøtet 2025 gitt et mandat til Andre Ingebretsen (AI) til å lede og sette sammen en Arbeidsgruppe for identifikasjon (AFI) i en oppstartsfase.
- Det ble foretatt en utlysning i MikInfo der responsen og interessen var mindre enn forventet, men AI har likevel nå klart å sette sammen en arbeidsgruppe (AFI) med geografisk representasjon.
- AFI:
 - Mandatsammensetningen til AFI kan bli endret, men i oppstartsfasen er det satset på en modell med lege/bioingeniør-par fra sykehus i hver helseregion.
 - LIS/lege fra Helse Nord (p.t. Nordlandssykehuset), Helse Vest (p.t. HUS), Helse Sør-Øst (p.t. OUS), samt molekylærbiolog fra Helse Midt (St.Olavs) og leder (mikrobiolog/molekylærbiolog, OUS).
 - Vurderingen fra AI er at man nå har en tilstrekkelig sterk faggruppe, og disse vil i jan/feb 2026 ha sitt første møte. Det planlegges for et fysisk møte samt regelmessige digitale møter i 2026.
 - Det vil bli arbeidet med en rapport om de viktigste forandringene innen bakteriell/sopp taksonomi i 2026.
 - Det vil bli arbeidet for et nasjonalt åpent heldagsmøte i 2027.
 - Det vil også arbeides for kommunikasjon gjennom en nettside, og ev. webinarer, men her er tidsplanen ikke satt, og omfanget vil også være avhengig av hvilke ressurser man får tilført til arbeidet.
 - Det poengteres at nasjonale endringer i svarrapportering må ta hensyn til mange forhold, og kan være et komplekst arbeid. Det er aktuelt å bruke høringsinstanser som arbeider med overvåkning (ECDD/FHI/MSIS) og resistens (AFA/NordicAST/EUCAST), og

man må orientere seg i internasjonale retningslinjer for taksonomi og nomenklatur, sekvensdatabaser og MALDI-databaser/oppdateringer, samt holde øye med internasjonale ID-harmoniseringprosjekter. Anbefalt svarrapporteringen skal ha et klinisk perspektiv.

- Gruppen fortsetter inntil videre som et underutvalg under Nasjonalt forum, men AFI vil også arbeide med en modell for permanent forankring, gjerne ala AFA.

DEL 2 - INNLEGGENE/ BAKGRUNNSINFORMASJON

Som del av den faglige forberedelsen til strategimøtet utarbeidet innleiderne sitt vitenskapelig bakgrunnsmateriale og forslag til anbefalinger, som ble sendt ut til det medisinsk-mikrobiologiske miljøet i Norge >2 uker før strategimøtet.

Etter møtet Programkomiteen utarbeidet et utkast med forslag til anbefalinger med bakgrunn i innlegg og diskusjoner. Dette utkastet er gjennomgått av innledere og Referansegruppe. Et omforent forslag fra disse aktørene har deretter vært på høring på MikInfo der representanter har fått anledning til å kommentere på vegne av sitt laboratorium. Etter denne høringen har Programkomiteen sammenstilt en endelig rapport, som så er oversendt referansegruppen.

Enkelte sammendrag og anbefalinger som etter bearbeiding og vurdering i Programkomiteen avvike fra innlegg på Strategimøtet. Det er i så fall kommentert særskilt. Graden av dissens på møtet skal angis i rapporter fra Strategimøtet. Det var ikke vesentlige dissenser ved avstemminger i dette Strategimøtet (se avstemminger referert i aktuelle kapitler i del 1).

Massespekterdatabaser for identifikasjon av mikrober

Forfatter: André Ingebretsen, Oslo universitetssykehus

FORSLAG TIL ANBEFALINGER (RØD SKRIFT = TIL DISKUSJON KONTROVERSIELLE)

ANBEFALING 1 – OPPBYGGING AV BENYTTETE DATABASER

Laboratoriene bør kjenne til hvordan MS- databasene de benytter er bygget opp. De bør kjenne til hvilke stammer som er benyttet til å bygge opp databasen og hvordan stammene er identifisert i utgangspunktet (WGS + ANI analyse?)

ANBEFALING 2 – VALIDERING AV SELVPRODUSERTE REFERANSESPEKTRE LAGT TIL I INTEGRERTE SPESIALLAGDE DATABASER

Ved å tilføye egenproduserte referansespektre til sitt eget system kan man forbedre identifikasjonen i organismegrupper som står svakt i leverandørens MS databaser. Slike spektre bør produseres etter leverandørens føringer for å produsere referansespektre («Standard Operating Procedures, SOPs»). **De bør lagres utenfor den IVD godkjente databasen i MALDI systemet og bør valideres som «in house» databaser etter IVD regulativet. Likeledes bør importerte spesiallagde MS databaser valideres på lik linje med «in-house» i IVDR.**

ANBEFALING 3 – BRUK AV IVD GODKJENTE SYSTEMER VS. BRUK AV ROU SYSTEMER (EKSTERNE DATABASER)

Det anbefales å bruke IVD godkjente systemer så langt det praktisk lar seg gjøre. Bruk av databaser som ikke er IVD godkjente bør valideres som «in-house» databaser etter IVDR artikkel 5. Det bør opprettes en felles valideringsmal for bruk av ROU systemer ved bruk i diagnostikk. Disse bør være harmonisert nasjonalt og verifisering av nye referansespektre inn i disse databasene bør gjøres årlig.

AVGRENSNINGER RELEVANTE PROBLEMSTILLINGER

Omhandler kun databaser som identifiserer bakterier og sopp til minimum artsnivå.

PROBLEMOMRÅDE 1.

Hvor gode MALDI systemene er til å identifisere mikrober avhenger av spektre med god kvalitet og av MS databasene (referansespekterbibliotek) som benyttes. Det er mange som ønsker å forbedre identifikasjon av mikroorganismer i sitt laboratorium ved å utvide med sin egen MS database eller ved å benytte alternative databaser, både kommersielle og «open source». Disse databasene er stort sett nettbaserte. Dette er ikke helt ulikt det som benyttes ved sekvensering av mikrober i dag.

Vil man supplere med egenproduserte referansespektre bør disse produseres på lik linje som referansespektrene produsert av leverandøren av systemet man benytter (Bruker, Biomerieux etc). Det kan være nyttig å lagre disse referansespektrene i separate mapper slik at det ikke er et forstyrrende element i en IVD godkjent arbeidsflyt. De forskjellige leverandørene av MALDI systemer har føringer for hvordan de produserer referansespektre (SOPs) og en bør følge disse når man skal produsere referansespektre.

Noen punkter bør vurderes for å fastslå kvaliteten på databasen. Disse punktene vil gjelde enten man skal utvikle en MS databaser for eget bruk, dele den med andre eller man tar i bruk en MS database som andre har utviklet:

- Antall tekniske replikater (dvs. antall analyserte avsetninger [spots] fra en kultur brukt til å generere et referansespekter).

- Antall biologiske replikater (dvs. antall referansespektre fra distinkte subkulturer for hver stamme).
- Antall distinkte stammer av en gitt art (dvs. heterogeniteten av mikroorganismer brukt til å konstruere MS databasen).
- Typen av medium brukt til å dyrke organismen og alderen på kulturen når referansespekter genereres kan ha en betydelig effekt på MALDI-TOF MS resultater.
- Metode for oppkonsentrering av prøve (f.eks. blodkulturflasker), hvis aktuelt.
- Metode for spotting og ekstraksjon (dvs. direkte spotting, direkte på-plate maursyre spotting, eller full ekstraksjon i eppendorfrør)
- Parameterne brukt for å produsere referansespektre. Er MALDI-TOF MS parameterne for delt MS database de samme som det du har i ditt instrument?
- Referansemetoden for å fastslå identifikasjon av organismen du setter inn i din MS database. Er referansemetoden anerkjent akseptert for å fastslå definitiv bibliotekorganismeidentifikasjon? Referansemetode = helgenomsekvensering + ANI.
- Samsvar i tolkningskriterier. Er tolkningskriteriene de samme som IVD godkjente MALDI-TOF MS identifikasjonskriterier eller brukes alternative kriterier for å tolke identifikasjonskvalitet?

Generelt bør brukeren være nøye med antall og karakterisering av organismene brukt til å utvikle biblioteket, da jo større heterogeniteten av MALDI-TOF MS spektra inkorporert i MS databasen og jo mer presis karakteriseringen av mikroorganismene er, desto bedre blir den MALDI-TOF MS-baserte identifikasjonen. Brukere bør også sjekke spesifisiteten til MS databasen dvs. at identifikasjon av organismer som ikke finnes i databasen bør ikke gi en feilidentifikasjon.

Det finnes mange MS databaser tilgjengelig for å identifisere mikroorganismer. Den største av disse er Mabritec Central. Dette er en kommersiell nettbasert service der man sender inn spekteret sitt. Det er flere nettbaserte servicer tilbydere som er gratis (MSI-2, MicrobeNet, Klebsiella MALDI TypeR etc). Det finnes også åpen programvare man kan laste ned for å utføre identifikasjon av mikroorganismer (MicrobeMS-Matlab etc) samt referansespektre man laste ned via åpne hubs (Zenodo, Wikis etc) og kan legge inn i sitt system. All bruk av slike databaser må valideres/verifiseres før bruk i diagnostikk.

PROBLEMOMRÅDE 2 - IVD VS RUO DATABASES

Det finnes lite data som sammenligner identifikasjon av bakterier med en IVD godkjent database kontra en RUO database på samme MALDI TOF system. MBT compass reference library RUO (2023) inneholder 4320 arter i sitt bibliotek. Til sammenligning inneholder MBT compass reference library IVD (2023) 4239 arter. Det er klart at man mister noen arter, men det er uklart om dette har betydning i det kliniske laboratoriet. En sammenligning mellom identifikasjon av mykobakterier vha SARAMIS 4.12 (RUO) databasen og VITEK MS IVD 3.0 viste at VITEK MS IVD 3.0 databasen identifiserte mykobakterier mer korrekt enn SARAMIS 4.12. Dette var et forventet resultat da oppbygging og innhold av referansespektre i de to databasene er helt forskjellig. Ved å ta i bruk IVD godkjente databaser vil man kunne få standardiserte, låste systemer der man er helt avhengig av leverandørens oppdateringer av databasene. Således mister man muligheten til å benytte egenproduserte referansespektre og andre åpne databaser, som ofte gjør identifikasjonene av bakteriene bedre.

REFERANSER

1. CLSI. Methods for the Identification of Cultured Microorganisms Using Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry. 1st ed. CLSI guideline M58. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017.
2. Cuénod A, Foucault F, Pflüger V, Egli A. Factors Associated With MALDI-TOF Mass Spectral Quality of Species Identification in Clinical Routine Diagnostics. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021 Mar 16;11:646648. doi: 10.3389/fcimb.2021.646648. PMID: 33796488; PMCID: PMC8007975.
3. Barker KR, Kus JV, Normand AC, Gharabaghi F, McTaggart L, Rotstein C, Richardson SE, Campigotto A, Tadros M. A Practical Workflow for the Identification of *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucorales* by MALDI-TOF MS: Database, Medium, and Incubation Optimization. *J Clin Microbiol*. 2022 Dec 21;60(12):e0103222. doi: 10.1128/jcm.01032-22. Epub 2022 Nov 3. PMID: 36326257; PMCID: PMC9769873.
4. Toney NC, Zhu W, Jensen B, Gartin J, Anderson K, Lonsway D, Karlsson M, Rasheed JK. Evaluation of MALDI Biotyper Mycobacteria Library for Identification of Nontuberculous Mycobacteria. *J Clin Microbiol*. 2022 Sep 21;60(9):e0021722. doi: 10.1128/jcm.00217-22. Epub 2022 Aug 15. PMID: 35969171; PMCID: PMC9491183.
5. Uchida-Fujii E, Niwa H, Kinoshita Y, Nukada T. Construction and Application of an In-House Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) Database Specific to Bacteria From Horses. *J Equine Vet Sci*. 2021 Aug;103:103664. doi: 10.1016/j.jevs.2021.103664. Epub 2021 May 24. PMID: 34281642.
6. Bridel S, Watts SC, Judd LM, Harshegyi T, Passet V, Rodrigues C, Holt KE, Brisse S. Klebsiella MALDI TypeR: a web-based tool for Klebsiella identification based on MALDI-TOF mass spectrometry. *Res Microbiol*. 2021 Jun-Aug;172(4-5):103835. doi: 10.1016/j.resmic.2021.103835. Epub 2021 May 15. PMID: 34004273.
7. Asare PT, Lee CH, Hürlimann V, Teo Y, Cuénod A, Akduman N, Gekeler C, Afrizal A, Corthesy M, Kohout C, Thomas V, de Wouters T, Greub G, Clavel T, Pamer EG, Egli A, Maier L, Vonaesch P. A MALDI-TOF MS library for rapid identification of human commensal gut bacteria from the class Clostridia. *Front Microbiol*. 2023 Feb 21;14:1104707. doi: 10.3389/fmicb.2023.1104707. Erratum in: *Front Microbiol*. 2023 May 22;14:1208177. doi: 10.3389/fmicb.2023.1208177. PMID: 36896425; PMCID: PMC9990839.
8. Calderaro A, Gorrini C, Piccolo G, Montecchini S, Buttrini M, Rossi S, Piergianni M, Arcangeletti MC, De Conto F, Chezzi C, Medici MC. Identification of *Borrelia* species after creation of an in-house MALDI-TOF MS database. *PLoS One*. 2014 Feb 12;9(2):e88895. doi: 10.1371/journal.pone.0088895. PMID: 24533160; PMCID: PMC3923052.
9. Candela A, Guerrero-López A, Mateos M, Gómez-Asenjo A, Arroyo MJ, Hernandez-García M, Del Campo R, Cercenado E, Cuénod A, Méndez G, Mancera L, Caballero JD, Martínez-García L, Gijón D, Morosini MI, Ruiz-Garbajosa P, Egli A, Cantón R, Muñoz P, Rodríguez-Temporal D, Rodríguez-Sánchez B. Automatic Discrimination of Species within the *Enterobacter cloacae* Complex Using Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry and Supervised Algorithms. *J Clin Microbiol*. 2023 Apr 20;61(4):e0104922. doi: 10.1128/jcm.01049-22. Epub 2023 Apr 4. PMID: 37014210; PMCID: PMC10117122.
10. Bächli P, Baars S, Simmler A, Zbinden R, Schulthess B. Impact of MALDI-TOF MS identification on anaerobic species and genus diversity in routine diagnostics. *Anaerobe*. 2022 Jun;75:102554. doi: 10.1016/j.anaerobe.2022.102554. Epub 2022 Apr 1. PMID: 35367612.
11. Seuylemezian A, Aronson HS, Tan J, Lin M, Schubert W, Vaishampayan P. Development of a Custom MALDI-TOF MS Database for Species-Level Identification of Bacterial Isolates Collected From Spacecraft and Associated Surfaces. *Front Microbiol*.

2018 May 18;9:780. doi: 10.3389/fmicb.2018.00780. PMID: 29867782; PMCID: PMC5968301.

11. Leyer C, Gregorowicz G, Mougari F, Raskine L, Cambau E, de Briel D. Comparison of Saramis 4.12 and IVD 3.0 Vitek MS Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry for Identification of Mycobacteria from Solid and Liquid Culture Media. *J Clin Microbiol*. 2017 Jul;55(7):2045-2054. doi: 10.1128/JCM.00006-17. Epub 2017 Apr 19. PMID: 28424252; PMCID: PMC5483906.

Kvalitetskontroll av massespektrometri

Forfatter: Torbjørn Bruvold, Mikrobiologisk Avdeling, Haukeland Universitetssjukehus.
torbjorn.sele.bruvold@helse-bergen.no

FORSLAG TIL ANBEFALINGER (RØD SKRIFT = TIL DISKUSJON KONTROVERSIELLE)

ANBEFALING 1 – RUTINER FOR DAGLIG OG PERIODISK KVALITETSKONTROLL

Ved bruk av **RUO-modus** må man opprette internkontroll med kjent stamme (i) **ved hvert oppsett**, eller (ii) ved bytte av reagenser og plater. Rutiner rundt kvalitetskontroll bør følge prøveflyten når det gjelder antall repetisjoner av oppsett, dyrkingsmedier og alder på kultur. Ved bruk av automatisert oppsett benytt (i) daglig kontroll og (ii) kontroll ved skifte av reagenser. Benytt leverandørs egen kontroll til kalibrering av instrument ukentlig. Ved bruk av **IVD-metode** følges leverandørens godkjente IVD-arbeidsflyt.

Periodisk kontroll gjøres med et utvidet panel som dekker et utvalg relevante mikrober. Denne kontrollen danner også datagrunnlaget som skal benyttes ved oppdatering av database og/eller andre softwareendringer.

Laboratorier bør delta i et eksternt kvalitetsprogram for identifikasjon av mikrober.

ANBEFALING 2 – BRUK AV TARGET PLATES OG NEGATIV KONTROLL

Engangsplater og flerbruksplater kan brukes.

Negativ kontroll må benyttes på flerbruksplater, som kontroll på platevask. Følg leverandørens anvisning for når plater bør erstattes.

ANBEFALING 3 – KONTROLLRUTINER VED ENDRINGER I DATABASE

Følg årlige oppdateringer fra leverandører, erfaringsmessig blir det tilbudt installert ved periodisk vedlikehold fra leverandøren (PM). **Ved nye mikrober og endringer av mikrobenavn bør disse kontrolleres mot en valgt referansekilde (f.eks. <https://lpsn.dsmz.de/>) og det bør gjøres en vurdering av om de skal endres eller ikke.**

AVGRENSNINGER RELEVANTE PROBLEMSTILLINGER

Av IVDR følger et krav om at leverandør dikterer de faste rutinene ved hvert oppsett. Dette inkluderer daglig kontroll av reagenser og plater.

For det enkelte laboratorium er det generelt vanskelig å etterprøve kvaliteten på nye/endrede spektre, da man nesten aldri har tilgang på referansemikrober for kontrollering av endingene, og man er prisgitt at leverandøren faktisk har riktige spektre.

PROBLEMOMRÅDE 1

MALDI-TOF er et instrument der ulike faktorer kan gi dårligere score og/eller konsistens. Som sluttbrukere er det begrenset hvor mye/hvordan man kan justere på instrumentene for å opprettholde det best mulig resultat av prøvesvar. Dette er blant annet plassering av topper, justering av baseline, justering av laser og detektorstyrke. En studie viste at instrumenter som ikke har regelmessig vedlikehold fra leverandør eller lengre tid fra kalibrering kan levere dårligere resultater (1). Erfaringsmessig ser man også at dette gjelder for eldre instrumenter, eller instrumenter som nærmer seg service.

Det er fra leverandør definert faste «cut-offs» på verdier som gir et godt nok svar, disse gjelder alle mikrober og det kan derfor være nødvendig å etablere kvalitetskontroller som er strengere enn dette. En studie viste at *Enterococcus faecium* ATCC8459 som går inn med en score på 2.0 på Bruker MALDI-TOF kan være et tegn på at maskinen er dårlig kalibrert. Dette

er > 3 standardavvik fra normalen 2.43 ± 0.08 (2). Brukers Bacterial Standard Solution (BTS) krever flere parameter enn bare Score-verdi for å godkjenne kvalitetskontrollen. BTS-kontrollen sjekker at topper er funnet, bredde på topp, skuddintensitet og høyde på "baseline" (se fig under).

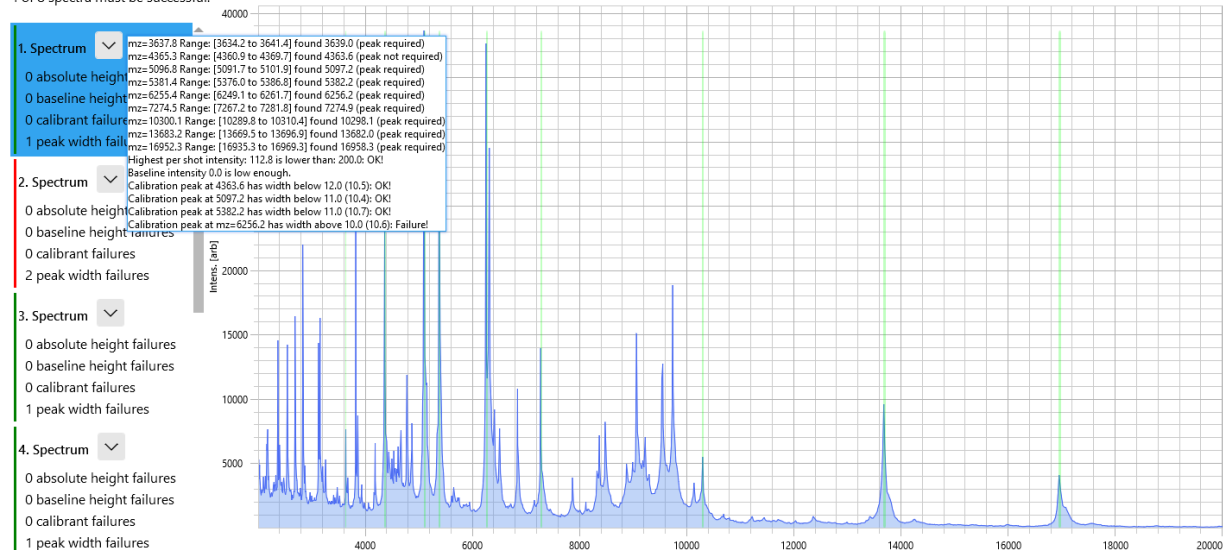
Quality check at position H10 ✓

Identified as *Escherichia coli* with a log(score) of 2,21

7 checks passed. 1 checks failed.

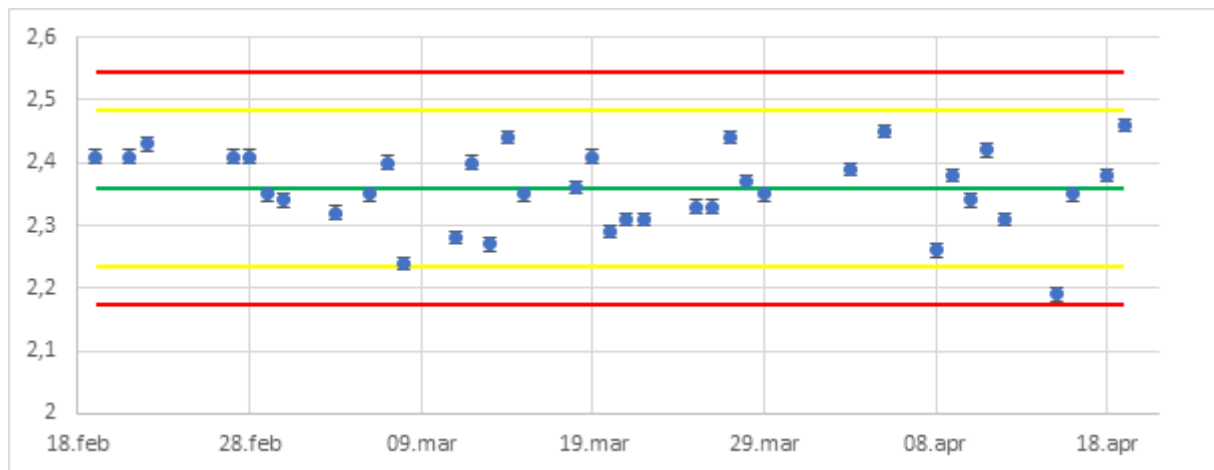
1 peak check failure(s) are allowed.

4 of 8 spectra must be successful.



BTS QC på Bruker Sirius, funn av topper, måling av baseline, peak width og skuddintensitet

Det finnes ulike forslag til hvordan en kit-uavhengig kvalitetskontroll kan utføres på MALDI-TOF. Croxatto et al. har utviklet et internt program der man ukentlig analyserer to ATCC-stammer der man ser på antallet av et definert sett med topper som påvises med intensitet over 200. Det er imidlertid ikke angitt noen aksjonsgrense for hvor stort avvik man kan tillate, eller hvordan en eventuell trend skal følges (3). Sogawa et al. har gjennom et eksternt kvalitetskontrollprogram vist en alternativ metode der man kan følge score for en bestemt kvalitetskontrollstamme og sette aksjonsgrenser på ± 2 og 3 standardavvik fra gjennomsnittet (4). Et eksempel på bruk av dette systemet fra Haukeland Universitetssjukehus (HUS), der det settes opp en daglig kontroll med *Enterococcus faecalis* ATCC29212, er vist i figuren under. Rutiner for kvalitetskontroll bør følge prøveflyten når det gjelder antall repetisjoner av oppsett, dyrkingsmedier og alder på kultur.



Intern kvalitetskontroll på IdentiFA, *E. faecalis* ATCC 29212 i perioden 19.02.24-19.04.24 mot $\pm 2SD$ og $\pm 3SD$

Manuelt oppsett av MALDI-TOF utføres normalt av den eller de personene som leser av bakteriologiske prøver, og dette gjør at ulike personer kan sette opp prosjekter til MALDI-TOF i løpet av en arbeidsdag. Dersom flere matriksløsninger og plater er i bruk samtidig er det enklere å ha med kontroll på hvert oppsett enn å kontrollere alle reagenser i bruk hver for seg. I tillegg fungerer kontrollen også som en kontroll på at brukeren har lagt på riktig spot/innsanning av platen på instrumentet.

På laboratorier der oppsettene er fordelt til en arbeidsstasjon og en person har ansvaret for alt som settes opp kan det være mer hensiktsmessig med kontroll når ny matrix eller ny plate tas i bruk.

Til utvidet periodisk kontroll velges relevante mikrober med ulike typer cellevegg (4). Haukeland US har valgt å bruke *Staphylococcus aureus* ATCC29213, *Eschericia coli* ATCC25922, *Haemophilus influenzae* ATCC49766 og *Salmonella typhimurium* ATCC14028. Disse stammene kan også brukes ved validering av ny database og ved programvareendringer. Det er krav til akkrediterte laboratorier om å delta i et eksternt kvalitetskontrollprogram, som UK-NEQAS eller tilsvarene. Laboratorier som ikke er akkrediterte, bør likevel vurdere å delta i et slikt program.

PROBLEMOMRÅDE 2

To ulike studier fant ingen signifikante kvalitetsforskjeller mellom ulike plater (5,6). Bruker har godkjent både engangsplater og stålplater til IVD-bruk. Biomerieux selger bare engangsplater. Flerbruksplater har en coating på toppen og en ser at plater blir slitt og får riper etter en tids bruk. Det er da mer krevende å rengjøre dem, og i tillegg kan det oppstå problemer ved at reagenser flyter utover. Negativ kontroll kan være hensiktsmessig (2,8), og denne bør ikke være på samme lokasjon på alle oppsett. Ved større riper i plater der materiale kan samle seg, eller ved ødeleggelse av overflatespenning på platene bør platene erstattes.

PROBLEMOMRÅDE 3

<https://lpsn.dsmz.de/> kan brukes som referanse for navngiving på bakterier og <https://www.mycobank.org/> eller <https://www.indexfungorum.org/> for sopp. Bruker kan noen ganger være raskt ute med navneendringer som ikke er offisielle enda. Ved oppdatering av database, sender leverandør ut endringer som gjennomgås og vurderes. *Et eksempel fra siste oppdatering er *Staphylococcus lentus* som ble endret til *Mammalicoccus lentus* som enn

så lenge står som «Taxonomic status: synonym». (7) Ved besvaring av stammer med nye navn der gamle navn er godt innarbeidet bør endringer beskrives ved svarrapportering, f. eks *Winkia neuui* (tidligere *Actinomyces neuui*).

REFERANSER

1. Cuénod, Aline et al. (2023) Quality of MALDI-TOF mass spectra in routine diagnostics: results from an international external quality assessment including 36 laboratories from 12 countries using 47 challenging bacterial strains.
1. UK Standards for Microbiology Investigations, Matrix-assisted laser desorption/ionisation - time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) test procedure Test Procedures | TP 40 | Issue no: 1.1 | Issue date: 27.11.19
3. Antony Croxatto, Guy Prod'homme, Gilbert Greub (2012), Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology, *FEMS Microbiology Reviews*, Volume 36, Issue 2, March 2012, Pages 380–400 <https://academic.oup.com/femsre/article/36/2/380/565595>
4. Sogawa, Kazuyuki, et al. (2024) External quality control survey on identification of microorganisms using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Microorganism Control* (2024) Vol. 29, No. 1, 49-53
5. Navarro-Carrera, et al. (2023) Evaluation of MSP96, MBT Biotarget™ 96 and AnchorChip™ 600/96 MALDI-TOF MS target plates for direct identification of positive blood cultures. *Journal of Microbiological Methods*, Volume 211, August 2023, 106789
6. Schouten, Robert K.P, et al (2024) Comparison of MBT biotargets with MBT steel targets for matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry identifications of microorganisms in a clinical microbiology laboratory
7. <https://lpsn.dsmz.de/species/mammaliicoccus-lentus> (datert 16.05.2024)
8. CLSI. Methods for the Identification of Cultured Microorganisms Using Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry. 1st ed. CLSI guideline M58. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute (2017)

Kvalitetssikring og harmonisering av svarrapportering av bakterie- og sopp-identifikasjon ved Maldi-TOF MS

Forfatter: Jørgen Vildershøj Bjørnholt

FORSLAG TIL ANBEFALINGER (RØD SKRIFT = TIL DISKUSJON KONTROVERSIELLE)

Det er tatt utgangspunkt i at enkeltlaboratorier selv må ha godt innsyn i styrker og svakheter ved en sentral aktivitet som identifisering av bakterier og sopp.

ANBEFALING 1 – ÅRLIG OPPDATERINGER BIBLIOTEK OG LITTERATURGJENNOMGANG

- Den enkelte avdeling bør utarbeide prosedyre for årlig oppdatering av bibliotek hvor systematisk oversikt over endringer inngår.
- Prosedyren skal sikre at relevant laboratoriepersonale gjøres kjent med prestasjon (matching hints) og omfang, taksonomiske endringer (fra nomenklaturspørsmål til klassifisering), minst én gang i året.
- Endringene skal avspeiles i LIMS-funksjonalitet (mapping/dokumentasjon) og testing av elektronisk overføring av resultater bør inngå i prosedyren.
- Listen (oversikt) kan ev. utarbeides med innspill fra referanselaboratorier, kompetansetjenester og overvåkingssfunksjoner om endringer har konsekvens for disse.
- Planlegg regelmessige gjennomganger av litteraturen. Søk med jevne mellomrom i en eller flere databaser etter relevante taksonomiske endringer av klinisk relevante arter. Trolig bør alle avdelinger gjøre dette - ikke bare laboratorier med referansefunksjoner og kompetansetjenester. Søk vil være særlig nyttig i tilknytning til biblioteksoppdateringer ettersom både endringer ev fravær av endringer ved oppdateringene ikke alltid godt begrunnet i ulike fagmiljøer som benytter Maldi-TOF MS i identifikasjonsarbeid..
- Taksonomiske endringer kan prioriteres om antallet kliniske stammer rapportert i publikasjoner er 5 eller flere og noen isolater er fra sterile steder (f.eks. blod, cerebrospinalvæske eller synovialvæske) eller anerkjente sykdomssyndromer (f.eks. cystisk fibrose).

ANBEFALING 2 – IMPLEMENTERING AV TAKSONOMISKE ENDRINGER

- Innarbeid tidsriktige endringer i «klinisk praksis» på en hensiktsmessig måte (se anbefaling 3).
- Hver enkelt institusjon må avgjøre når taksonomiske endringer skal innarbeides i diagnostiske testoppsett, arbeidsflyt og rapportering.
- Taksonomiske endringer i sjeldent forekommende agens kan formidles ved funn og ikke som del av årlig informasjon til klinikere («information overload»). For eksempel kan en ny art beskrevet og basert på kun type-stammen være viktig å adoptere hvis 5 til 10 uavhengige studier som dokumenterer infeksjon blir publisert innen 1 til 2 år etter forslaget.

ANBEFALING 3 – TIDSRAMMER OG VALIDERING AV ENDRINGER

- Ikke innarbeid foreslåtte taksonomiske endringer i laboratoriet tidligere enn 1 år etter publiseringsdatoen. Forslag om nye arter må være validert dersom de er publisert utenfor IJSEM. Artsforslag kan også være ugyldige eller et subjektivt synonym for en tidligere publisert art.

- For klassifisering er det viktig å huske at det ikke finnes regler som for bakterienomenklatur. Aksept er basert på bruk av det vitenskapelige miljøet, som er avhengig av dataene som presenteres for den foreslåtte klassifiseringsendringen.
- Klassifiseringsendringer foreslått for vanlige eller viktige infeksjonssykdomsgrupper bør overvåkes nøye jamfør anbefaling 2.

ANBEFALING 4 – BRUK AV NY NOMENKLATUR OG DOKUMENTASJON

- Legg til rette for overgang til det nye navn. I en periode på 1 til 2 år, avhengig av hvor ofte organismen isoleres, bør det tidligere navnet rapporteres i parentes sammen med det nye navnet, f.eks. *Grimontia (Vibrio) hollisae* eller *Vibrio hollisae* med kommentar «Nytt foreslått navn *Grimontia hollisae*».
- Bruk av «kompleks»-betegnelsen bør være koordinert med referanse- og overvåkingsfunksjoner, samt kvalitetssikret mot MALDI-TOF databaser.
- Ved økt oppløsning og differensiering innad i komplekser bør «eksakt» MALDI-TOF ID registreres i LIMS selv om en svarer ut et kompleks, slik at LIMS-statistikk på sikt er mulig.

ANBEFALING 5 – KOMMUNIKASJON MED KLINISK PERSONALE

- Informer klinisk personale om endringer i rapportering. Prosedyre for biblioteksoppdateringer og endret nomenklatur/ klassifikasjon bør inneholde en plan for å varsle leger, sykepleiere og annet medisinsk personale om forestående taksonomiske endringer i rapportering. Et nyhetsbrev (intranett og laboratoriehåndbok), hvor betydningen av disse endringene kort angis, sammen med en referanse. Nyhetsbrevet og varslingsene bør gå ut i forkant av den faktiske innføringen av nye taksonomiske endringer/oppdateringer.

BAKGRUNN OG AVGRENSNING

All bakterie ID, inkl. ID med Maldi-TOF skal være kvalitetssikret i henhold til det enkelte laboratoriums akkrediteringsstatus/standard og dokumentert i lokalt kvalitetssystem. Krav til kontroller/oppsett av standarder er til dels produsentavhengig og omtales annet sted og forutsettes prosedyrestyrt – jamfør akkrediteringsstatus. IVDR/ RUO status av metode/biblioteker er heller ikke berørt her (se annet innlegg) og forutsettes prosedyrestyrt av det enkelte laboratorium.

Identifikasjon av bakterier med MALDI-TOF MS er siden introduksjonen i 2007/8 blitt den vesentligste identifikasjonsmetode fra kultur i kliniske mikrobiologiske laboratorier. Det er tallrike publikasjoner som har validert metoden vs. tradisjonell og genotypisk ID (1). Metoden stiller «krav» til (i) kvaliteten på prøvepreparering/oppsett, (ii) vurdering av identifikasjon gitt/som funksjon av referansedatabase (spektre) inkludert tolkning av nært «beslektede» spektre, (iii) entydig svar til kliniker som ivaretar klinisk relevans av identifikasjonen gitt stor oppløselighet av MALDI-TOF MS og (iv) utvikling/endringer av taksonomisk nomenklatur og klassifikasjon. Dette innlegg tar primært for seg utfordringer og nødvendige prosedyrer knyttet til punktene (ii), (iii) og (iv), mens krav til kvalitet (i) er omtalt i annet sammendrag.

Det er ikke foretatt et systematisk litteratursøk, temaet er belyst ut fra eget laboratorium sine erfaringer (Bruker Daltronics instrument), målrettede søk i PubMed og Google scholar samt «snowballing».

DIAGNOSTISKE MALDI-TOF MS DATABASER

Kliniske mikrobiologiske laboratorier i Norge bruker i all hovedsak instrumenter fra to produsenter, bioMérieux (Frankrike) og Bruker (Tyskland), sistnevnte har betydelig dominans. Begge instrumenter har programmer, hhv. SARAMIS (bioMérieux) og MBT Compass (Bruker), som sammenligner produsert masse-spektrum med spektre i en referansedatabase og angir utfra en algoritme en sannsynlig identifikasjon. Det er imidlertid en rekke begrensninger som må håndteres på en kvalitetssikret måte av det utførende laboratorium.

Kvalitet og omfang av referanse databaser(biblioteker)

De nyeste biblioteker inneholder flere tusen species (f.eks. 4320 species, 12438 MSP (main spectre/referansesespektre) i MBT Compass bibliotek 2023) og dekker de aller fleste medisinske relevante species (sopp omtalt annet sted). Likevel vil en kunne møte tilfeller hvor spekteret til et medisinsk relevant isolat ikke kan identifiseres, og andre metoder må tas i bruk. Dette gjelder f.eks. en rekke species: *Streptococcus pneumoniae*, *Aeromonas* spp m.fl. En del species har også få MSP'er og derfor må en fortsatt utvikling i omfang og kvalitet forventes. Dette markedsføres - ikke overraskende - som et viktig element av produsentene. Manglende eller utilfredsstillende identifikasjon av et klinisk isolat må derfor medføre annen ID-tilnærming vurdert ut fra viktighet av funnet (tradisjonelle metoder ev. HGS ved behov). Ved oppdateringer kan bedre ID medføre utfordringer ved rapportering. Eksempelvis angir Bruker i versjon 13 å kunne skjelne innad i *Enterobacter cloacae* komplekset. Å rapportere kun *Enterobacter cloacae* eller *Enterobacter cloacae* - komplekset sammenliknet med å rapportere *Enterobacter hormaechei* er da ikke likeverdig, og rapportering som «complex» kan medføre at verdifull informasjon med tanke på fremtidig epidemiologi mistes. En løsning kan være å sikre at «eksakt» ID er dokumentert og tilgjengelig i LIMS.

Oppdateringer av biblioteker (tillegg og fjerning av spektre, rettelser, mm)

Som nevnt pågår stadig utvikling av referansespekterbiblioteker, og som konsekvens av at denne teknologi også brukes av veterinærer, fødemiddel- og miljø-mikrobiologer m.fl. vil en del mikrober ha liten klinisk relevans. Det publiseres jevnlig oppdateringer hvor nye spektre fra nye species tilføyes, spektre av bedre kvalitet for allerede inkluderte species tilføyes og andre fjernes pga. dårlig kvalitet eller usikkert opphav. MBT Compass biblioteket har f.eks. vokst fra 2748 species (7854 MSP) i 2019 til dagens 4320 species (12438 MSP). I tillegg oppdateres databasene i henhold til ny/endret taksonomi (nomenklatur og klassifikasjon) (se senere).

Nært beslektede spektre (Matching hints (Bruker))

Identifikasjonsalgoritmene i SARAMIS og MBT Compass er generelt velfungerende og gir oftest adekvat identifikasjon (av bakterier). Dette er imidlertid ikke uten unntak og den enkelte bruker (laboratorium) bør ha god kunnskap til begrensninger. Begge systemer publiserer derfor kommentarer til prestasjon av identifikasjon, også ved biblioteksoppdateringer (Release notes (Bruker)) og alle brukere må ha kjennskap til disse. Slike kommentarer (matching hints) er relativt omfattende (130 sider MBT Compass Library 2023) og det er verdt å merke seg at disse begrensninger legger overordnede føringer for (i) evne til identifikasjon og (ii) hva som kan svares ut til kliniker.

TAKSONOMI – NOMENKLATUR NYE TAXA (SPECIES) OG ENDRET KLASSIFIKASJON

Fra 1970-tallet revolusjonerte DNA-DNA hybridisering (DDH) kliniske mikrobiologers oppfattelse av hva som var et "species" og ble anvendt til å kartlegge det mest basale taksonomiske nivå. Disse taxa hadde tidligere vært definert av et begrenset utvalg av fenotypiske prokaryote kjennetegn og teknikker som morfologiske- og kultur karakteristika, biokjemiske egenskaper, numeriske taxonomiske studier og molekylært G+C prosentandel («polyphasic taxonomy») (2). DDH er imidlertid metodologisk krevende og ble foretatt på spesiallaboratorier. I nyere tid har 16S rDNA og rpoB sekvensering, og siden WGS blitt introdusert som «allemananseie» og antall nye taxa som meldes har vokst eksponentielt. En vesentlig utfordring for den kliniske mikrobiolog i dag er imidlertid at disse ofte baserer seg på en «type strain» og sjeldent innehar informasjon om klinisk betydning. Av alle nye taxa som meldes i dag har trolig betydelig mindre enn 10 % klinisk relevans (3).

Mens taksonomisk nomenklatur er strengt regulert (4) er klassifikasjon («the orderly arrangement of phylogenetic groups or clades based upon genetic characterization of genes or genomes») ikke tilsvarende regulert, - og den er ikke statisk. Den kan endre seg når bedre evidens for mer korrekt fylogenetiske plassering av stammer foreligger, eller når species eller genera blir tilgjengelig. Klassifikasjonen baserer seg på dagens kunnskap og vil derfor være i endring – og akseptert klassifikasjon er videre definert ut fra hva som er publisert, generelt anvendt og akseptert i den vitenskapelige litteratur – en litteratur som gjerne ikke er tett knyttet opp mot den kliniske virkelighet.

*Roses are red
I think, "What the hell?"
Enterobacter aerogenes
Is now Klebsiella*

«Unknown author»

Del 2 - Innleggene/Bakgrunnsinformasjon

For den kliniske mikrobiolog er det imidlertid viktig å være oppdatert på endringer i nomenklatur/ klassifikasjon da merkelappen vi setter på agens til en infeksjon (genus og species) er viktig for entydig kommunikasjon med leger og andre om aktuelle sykdomsbilde, prognose, behandling, utbrudds-håndtering og “nye” syndromer. Utfordringene som den moderne taksonomi skaper for den kliniske mikrobiolog er ikke ny. Det er dessverre ikke lengre tidsskrifter som adresserer dette systematisk, men det er tidligere av en konsensus/diskusjonsgruppe publisert tiltak som det enkelte laboratorium kan følge for å bøte på dette i Infectious Diseases (5). En senere oppdatering er gjort av Janda JM (6). Gruppen og Janda-oppdateringen foreslår en rekke tiltak/punkter/retningslinjer for hvordan det klinisk mikrobiologiske laboratorium skal håndtere denne utfordringen. Denne anbefaling er ikke blitt mindre relevant og kan inkludere bruk av MALDI-TOF ID. Punktene er presentert tabellarisk i Tabell 1, hvor kommentarer rettet mot norske forhold og hensynet til MALDI-TOF ID er føyd til.

Tabell 1. Tilpasset etter Janda JM (6)

	Fra publikasjon (<i>Janda et al.</i>)	Norsk tilpassing/MALDI-TOF ID
1	Create an annual list. Develop a system to familiarize the laboratory with proposed taxonomic changes from nomenclature issues to classification on at least an annual basis. This can include published updates, literature searches, journal reviews, and other resources. For newly proposed species, if the number of clinical strains reported in the publication is 5 or more and some isolates are from sterile sites (e.g., blood, cerebrospinal fluid, or synovial fluid) or recognized disease syndromes (e.g., cystic fibrosis), make these proposed taxonomic changes a higher priority on the list for possible adoption.	Interne prosedyrer må sikre dette i hvert enkelt laboratorium. Listen kan ev. utarbeides med hjelp fra referanse laboratorier, kompetansetjenester og overvåkingsfunksjoner.
2	Schedule regular reviews of the literature. Periodically, search one or more databases, such as PubMed, for subsequent reports on proposed taxonomic changes based upon published case reports, case-control studies, outbreaks, clinical series, or weekly epidemiologic trends from <i>Morbidity and Mortality Weekly Report</i> (https://www.cdc.gov/mmwr/index.html).	Prosedyrestyres – Dette koples mot bibliotekoppdateringer og EUCAST/NordicAST publiseringer av brytningspunkttabeller etc.
3	Appropriately incorporate timely changes into clinical practice. At each institution, determine when taxonomic changes should be incorporated into the diagnostic testing scheme, work flow, and reporting. For instance, a new species described and based upon only the type strain might be important to adopt if 5 to 10 independent studies documenting infection are published within 1 to 2 years of the proposal.	OBS merk prioritering mtp MALDI-TOF biblioteker trenger ikke ikke-relevante taxa innarbeides. OBS rapportering til klinikker, koordinering overvåking etc.
4	Do not incorporate proposed taxonomic changes in the laboratory sooner than 1 year after the date of publication. Remember that new species proposals must be validated if published outside of IJSEM. Species proposals may also be invalid or a subjective synonym of a previously published nomenclature. For classification, it is important to remember that there are no rules as there are for bacterial nomenclature. Acceptance is based upon usage by the scientific community, which is dependent upon the data presented for the proposed classification change. Classification changes proposed for common or important infectious disease groups should be monitored closely.	Hvordan koordinere/time endringer, særlig innen klassifikasjon? Referanse funksjoner, EUCAST/NordicAST, andre involveres? OBS dashboards; NORM/NORM-VET og MSIS, brytningspunkttabeller EUCAST. Biblioteksoppdateringer.
5	Allow for transition to the new name. For a period of 1 to 2 years, depending upon the frequency of the organism's isolation, the previous name should be reported in parentheses along with the new name, e.g., <i>Grimontia</i> (<i>Vibrio</i>) <i>hollisae</i> .	Legg ev. til kommentar i svar i samme periode om nødvendig. Er det mulighet for dette i LIMS? Ev. tilpass. OBS begrepsbruk (candidemier, aktinomykose).
6	Educate the clinical staff on changes to reporting. The laboratory needs to develop a plan to alert physicians, nurses, and allied medical staff regarding impending taxonomic changes in regard to reports. A newsletter is a good idea, with the significance of these changes briefly indicated, along with a citation. The newsletter and notifications should immediately precede the actual adoption of new taxonomic changes.	Effekten av nyhetsbrev er avhengig av at de blir lest – muntlig formidling i konkrete fora er svært viktig. Internundervisning også nødvendig. Klinikere ønsker enkle svar (konservative).

HVA MED KLINIKEREN – HAR HEN NYTTE AV MODERNE MIKROBIOLOGISK TAKSONOMI OG MALDI-TOF ID?

Den kliniske mikrobiolog har behov for å følge ny taksonomi, det er viktig for entydig kommunikasjon med andre kolleger i inn- og utland samt for forståelsen av og bidrag til vitenskapelig litteratur (epidemiologi, id-assosiasjon til spesifikke sykdomsbilder, avdekke kryptiske foci). Likeledes oppfatter de fleste mikrobiologer det vel også som en del av faglig kredibilitet å være oppdatert på dette felt. Dette synes umiddelbart også å ha klar nytteverdi for kliniker. Kliniske leger og andre må derfor (også) oppdateres (av bl.a. det mikrobiologiske laboratorium) om aktuelle endringer, slik at entydig kommunikasjon om sykdomsbilde, prognose, behandling, utbrudds-håndtering og “nye” syndromer sikres og formidles korrekt. Dette forutsetter at de aktuelle endringer, særlig innen klassifikasjon er blitt akseptert av det vitenskapelige/faglige miljø – dette avklares som foreslått av (6) gjerne i løpet av 1-2 år, men varierer, således synes endret klassifikasjon av f.eks. *Klebsiella spp.* og endringer i nomenklaturen av gjærsopp å ta noe lengre tid, jamfør pågående diskusjon om f.eks. *Klebsiella* (7) og gjærsopp (8) innen det klinisk mikrobiologiske miljø. Det er heller ikke sikkert at slik ny kunnskap kan spres raskt, og det er erfart at det kan ta lengre tid før ny kunnskap omsettes i klinisk praksis (9). Erfaringsmessig synes det også som om mikrobiologer er mer interessert i dette enn klinikere. Til tross for felles ønske om best mulig behandling av pasientene, er det et generelt ønske fra klinikere at mikrobiologiske svar skal være enkle, lett forståelige og uten lange kommentarer. Når ny nomenklatur/klassifikasjon skal tas i bruk er det viktig at dette koordineres og samstemmer med etablert infeksjons- og resistensovervåking. Dette gjelder særlig reklassifisering innen sentrale agens når det får konsekvenser for forståelsen av epidemiologi over tid og ved presentasjon av dashboards - jamfør f.eks. NORM/NORM-VET rapporter og lokal overvåking av antimikrobiell resistens og internasjonal (europeisk) overvåking (EARS nett m.fl.). Det er viktig at disse er konsistente over tid, og dersom det er hensiktsmessig å ta inn ny kunnskap innen identifikasjon i overvåkningssystemene, bør det poengteres i slike rapporter.

PRAKTISK HÅNDTERING AV ENDRET TAKSONOMI/KLASSIFIKASJON

En harmonisering mellom landets laboratorier rundt hvordan og når man tar i bruk endret taksonomi og klassifikasjon kunne være ønskelig, og det er et gjennomgående ønske hos norske laboratorier (ref. spørreskjema Strategimøte bakteriologi 2024).

Det er uklart hvem som skulle ha ansvar for dette i Norge, og det er uansett flere hensyn å ta: (i) Dette omfatter ikke bare taksonomi (nomenklatur/klassifisering), men også må reflektere endringer/svakheter i MALDI-TOF ID. (ii) En kunne tenke seg at allerede eksisterende referansefunksjoner og relevante kompetansetjenester er representert med deres respektive mikrober, koordinert med tilsvarende Europeiske organisasjoner, særlig for taksonomi. For mikrober som omfattes av bl.a. nasjonal og europeisk overvåking er det særlig viktig å ta vare på epidemiologiske hensyn (eks resistensepidemiologi) som nevnt over. Det er derfor naturlig at MSIS (FHI) og NORM/NORM-VET bør være inkludert/representert i et slikt arbeid. (iii) Likevel bør mikrobiologisk diagnostisk aktivitet tettere på pasienter og (iv) klinikere være sterkt representert, slik at en stor del av ansvaret bør henlegges til diagnostiske laboratorier og kompetansen der. Koordinering og organisering er altså ikke åpenbar, men det synes opplagt at det klinisk mikrobiologiske miljø må ta og ha et større ansvar i dette.

Uansett organisering, synes det relevant å følge råd angitt i tabell 1 i det enkelte mikrobiologiske laboratorium – disse råd synes å være hensiktsmessige for referansefunksjoner og kompetansetjenester..

I tabell 2 er det angitt en rekke eksempler med forslag til hvordan oppdateringen av MALDI-TOF Compass bibliotek kan håndteres (renaming, matching hints) i lokal prosedyre. Det er viktig at slike rutiner er prosedyrestyrt og godt kjent i det enkelte laboratorium. For Bruker oppdateres bibliotekene gjerne en gang i året/årlig, slik at dette vil være en tilbakevendende øvelse og enkelt vil kunne inngå i tiltak skissert i Tabell 1. Eksempelene er ment å illustrere utfordringer knyttet til bruk av species komplekser med eller uten kommentar, manglende evne til å skjelne mellom species, endret klassifikasjon med mere. Eksempelene i Tabell 2 dekker ikke alle problemstillinger.

Tabell 2 Utdrag fra lokal prosedyre (eksempler som illustrerer renaming, matching hints, m.m.)

Oversikt tolkning og besvarelse av bakerier ID med Maldi-Tof i henhold til consistency og matching hints (metode begrensninger). I nedenstående tabell er det kun anført situasjoner hvor tiltak er nødvendige. ID med score > 2, consistency A og ingen matching hints kan besvares uten ytterligere tiltak. Merk unntak for spp. men få < 3 MSP'er.		
Species (VERSJON 13)	Unilab svar (Unilabkode)	Matching hint (ev. komm.)

Acinetobacter baumannii Acinetobacter calcoaceticus Acinetobacter lactucae Acinetobacter nosocomialis Acinetobacter pittii Acinetobacter seifertii	<i>Acinetobacter baumannii</i> complex om en ikke får log-score > 2 og consistency A etter ekstraksjon. Vurder HGS om viktig klinisk isolat (utbrudd). Tilføy kommentar: «Tilhører <i>Acinetobacter baumannii</i> komplekset» om det svares ut på spesies nivå.	Member of the <i>Acinetobacter baumannii</i> complex. Extraction must be performed to permit reliable species identification
Actinotignum sanguinis Actinotignum schaalii (Synonym of <i>Actinobaculum schaalii</i>).	<i>Actinotignum schaalii</i> Fast kommentar: Masse-spektrometrisk identifikasjon kan en ikke skjelne mellom <i>A sanguinis</i> og <i>A schaalii</i> ??	Species <i>sanguinis</i> / <i>schaalii</i> of the genus <i>Actinotignum</i> have very similar patterns: Therefore, distinguishing their species is difficult. Synonym of <i>Actinobaculum schaalii</i> . Species <i>sanguinis</i> / <i>schaalii</i> of the genus <i>Actinotignum</i> have very similar patterns: Therefore, distinguishing their species is difficult.
<i>Citrobacter freundii</i> <i>Citrobacter braakii</i> <i>Citrobacter gillenii</i> <i>Citrobacter murlinae</i> <i>Citrobacter rodentium</i> <i>Citrobacter sedlakii</i> <i>Citrobacter youngae</i>	<i>Citrobacter freundii</i> complex OBS <i>C Sedlakii</i> og <i>C gillenii</i> har ikke kromosomal AmpC?	Is a member of <i>Citrobacter freundii</i> complex. Species <i>braakii</i> / <i>freundii</i> / <i>gillenii</i> / <i>murlinae</i> / <i>rodentium</i> / <i>sedlakii</i> / <i>werkmannii</i> / <i>youngae</i> of the genus <i>Citrobacter</i> have very similar patterns: Therefore, distinguishing their species is difficult.
<i>Enterobacter asburiae</i> <i>Enterobacter bugandensis</i> <i>Enterobacter cancerogenus</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Enterobacter hormaechei</i> <i>Enterobacter kobei</i> <i>Enterobacter ludwigii</i> <i>Enterobacter roggkampii</i>	Svar ut enkelt spp med score > 2 og consistency A med kommentar «Tilhører <i>Enterobacter cloacae</i> komplekset» ellers <i>Enterobacter cloacae</i> kompleks	Member of <i>Enterobacter cloacae</i> complex
Klebsiella pneumoniae closely related to <i>Klebsiella variicola</i> Klebsiella variicola closely related to <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Svar som <i>Klebsiella pneumoniae</i> med kommentar «Masse-spektrometrisk identifikasjon kan ikke skjelne mellom <i>Klebsiella pneumoniae</i> og <i>Klebsiella variicola</i> » eller <i>Klebsiella pneumoniae</i> spp. kompleks.	7 phylogrupper i <i>Klebsiella pneumoniae</i> spp komplekset. Biblioteket inneholder kun de to nevnte spp.
Raoultella ornithinolytica Raoultella planticola Raoultella terrigena	Biblioteket har ikke fått med seg reklassifisering som <i>Klebsiella</i> OBS OXY betalaktamase Svar ut med kommentar «Massespektrometrisk identifikasjon kan ikke skjelne mellom <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Raoultella ornithinolytica</i> , <i>Raoultella planticola</i> og <i>Raoultella terrigena</i> .»	<i>Klebsiella oxytoca</i> and species <i>ornithinolytica</i> / <i>planticola</i> / <i>terrigena</i> of the genus <i>Raoultella</i> have very similar patterns: Therefore, distinguishing their species is difficult.
Staphylococcus argenteus / schweitzeri	Kommentar: Tilhører <i>Staphylococcus aureus</i> assosiert kompleks. OBS <i>S. schweitzeri</i> har ukjent klinisk patogenisitetspotensiale (10)	The species <i>Staphylococcus argenteus</i> and <i>Staphylococcus schweitzeri</i> form parts of a "Staphylococcus aureus-related complex" and show similar virulence potential compared to <i>Staphylococcus aureus</i> . Therefore, they should be further evaluated.
Winkia neuii synonym of <i>Actinomyces neuii</i>	Svares ut som <i>Actinomyces neuii</i> med kommentar «Ny nomenklatur <i>Winkia</i>	

<i>Winkia neuii</i> ssp <i>anitrata</i> synonym of <i>Actinomyces neuui</i> ssp <i>anitratus</i> <i>Winkia neuui</i> ssp <i>neuui</i> synonym of <i>Actinomyces neuui</i> ssp <i>neuui</i>	<i>neuui</i> » ev. <i>Winkia (Actinomyces) neuui</i> ,	
---	--	--

Tabellen viser eksempler på flere aspekter en må forholde seg til; **a)** MALDI-TOF kan skjelne innad *Acinetobacter baumannii* komplekset. Komplekset er kjent blant klinikere, men medlemmer er ikke like godt kjent. Når det er mulig kan en svare ut *Acinetobacter baumannii* komplekset eller identifisert spesies med kommentar om at de tilhører komplekset eller bare identifisert spesies. Om en svarer ut *Acinetobacter baumannii* komplekset alene bør «eksakt» dokumentasjon legges i LIMS for ev. senere statistikk. **b)** MALDI-TOF klarer ikke å skjelne mellom *Actinostignum schaalii* og *sanguinis*. Er dette klinisk relevant (11) svare ut som *Actinostignum schaalii*? Bør legge til kommentar: MALDI-TOF kan ikke skjelne mellom *Actinostignum schaalii* og *sanguinis*? **c)** MALDI-TOF kan ikke skjelne innen *Citrobacter freundii* komplekset, men her har flere spp. avvikende forventet resistensfenotype (fravær av kromosomal *ampC*). Kan en svare ut *Citrobacter freundii*, *Citrobacter freundii* komplekset eller må en forsøke å skille ut *C sedlakii* og *C gillanii* (ornithin og maleonat)? **d)** *Enterobacter cloacae* er kjent for mange klinikere. *Enterobacter cloacae* komplekset er nok mindre kjent, men forståelse er relativt uproblematisk for mange klinikere, men trolig ikke klart definert. Ved seneste oppdatering av Bruker biblioteket er det mulig å skjelne mellom flere medlemmer i komplekset, skal en da svare ut disse spesies, ev. med kommentar om at de tilhører komplekset eller skal en generelt svare ut som *Enterobacter cloacae*? Ved valg av sistnevnte bør det være mulig i LIMS systemet å dokumentere «eksakt ID» for ev. senere statistikk. **e)** MALDI-TOF biblioteketversjon 13 klarer ikke å skjelne fylogruppene i *Klebsiella pneumoniae* species komplekset da det kun er to av disse som er representert med spektre. Matching hints angir riktig nok at det er vanskelig å skjelne *K pneumoniae* og *K variicola*. En kan svare ut *K pneumoniae* med eller uten kommentar om at en ikke kan skjelne mellom *K pneumoniae* og *K variicola* ev. *Klebsiella pneumoniae* komplekset, sistnevnte er noe uvant men forståelig, men strengt tatt er de andre phylogrupeer ikke representert i databasen. *K. variicola* er mindre kjent. Konferer NORM/NORM-VET rapport 2023 (14) som i kommentar skriver hva som er innbefattet under *Klebsiella pneumoniae*. **f)** Bruker har ikke fått med seg at *Raoultella* er foreslått reklassifisert som *Klebsiella* for å sikre en monofyletisk fylogeni av *Klebsiella* (7), men matching hints angir at det er vanskelig å skjelne mellom *Klebsiella oxytoca*, *Raoultella ornithinolytica*, *Raoultella planticola* og *Raoultella terrigena*. Kan eksempelvis svares ut som *Klebsiella (Raoultella) ornithinolytica* eller som *Raoultella ornithinolytica* med kommentar om reklassifisering. Merk at alle spp. har klasse A betalaktamase som kan interferere med ESBL testing (OXY, ORN, PLA og TER). **g)** *Staphylococcus argenteus* bør få kommentar om tilhørighet og sykdomspotensiale. **h)** Bruker har adaptert *Winkia neuui* synonymet til *Actinomyces neuui*. Reklassifiseringen bør kommenteres, merk at begrepet Aktinomykose mister sin logiske konsistens. Det finnes flere slike eksempler og Tabell 5 er ikke ment å gi en komplett oversikt.

For identifikasjon av sopp pågår en tilsvarende utvikling, selv om taksonomien er forskjellig og mer kompleks (12, 13). Den hyppigste problemstilling for klinikere er trolig endringer innen gjærsopp-taksonomi hvor en rekke *Candida* spp. ikke lengre er *Candida* spp slik at begreper «candidemi» mister sin logiske betydning. Det pågår stadig en diskusjon innen mykologi-miljøet om hvordan en skal håndtere dette, men det synes å være enighet om å beholde candidemi-begrepet (en stund ennå) og introdusere nye navn som f.eks. *Clavispora (Candida) lusitaniae* ev. gammelt navn med kommentar («Nomenklatur av gjærsopp er under revisjon, nytt foreslått navn: *Clavispora lusitaniae*») ev. begge deler (8, 13). I tabell 3 er det presentert en oversikt over vanligste *Candida* spp., med foreslått ny nomenklatur tatt i bruk av Bruker og forslag til rapportering til kliniker. Merk at de Hoog et al (13) foreslår at disse forslag må vurderes av en internasjonal tverfaglig komité før en lander en mere konkret anbefaling.

Tabell 3 Eksempler på noen vanlige forekommende *Candida* spp. og forslag til besvarelse.

Species (VERSJON 13)	BESVARELSE	Kommentar ev. matching hints
<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i> med kommentar*.	-
<i>Debaryomyces hansenii</i>	<i>Candida famata</i> med kommentar*.	-
<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	<i>Candida guilliermondii</i> med kommentar*.	-
<i>Pichia cactophila</i>	<i>Candida inconspicua</i> .	-
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	<i>Candida kefir</i> med kommentar*.	-
<i>Pichia kudriavzevii</i>	<i>Candida krusei</i> med kommentar*.	-
<i>Pichia fermentans</i>	<i>Candida lambica</i> med kommentar*.	-
<i>Clavispora lusitaniae</i>	<i>Candida lusitaniae</i> med kommentar*.	-
<i>Wickerhamiella pararugosa</i>	<i>Candida pararugosa</i> med kommentar*.	-
<i>Cyberlindnera jadinii</i>	<i>Candida utilis</i> med kommentar*.	-

Merk Bruker biblioteket bruker ikke foreslått navn *Nakaseomyces glabrata** Fast automatisert kommentar f.eks *Candida kefyr*: «Nomenklatur av gjærsopp er under revisjon, nytt foreslått navn: *Kluyveromyces marxianus*». Merk for øvrig andre krav til vurdering av log score for sopp – se andre innlegg.

Implementering av ev. endringer i taksonomi lokalt er ikke like frem – jamfør nødvendigheten av ovenstående punkter og tiltak nevnt i tabell 1. Endringer kan få videre betydning enn umiddelbart antatt, for begrepsbruk (candidemier, aktinomykose), dashboards (lokalt og nasjonalt (NORM, MSIS), LIMS funksjonalitet, tidslinje overvåking, resistens rapportering inkl. overvåking mm. Denne utfordringen blir ikke mindre når dette kombineres med begrensninger i MALDI-TOF ID, konf. tidl. nevnte begrensninger (matching hints) og kontinuerlig pågående oppdatering av biblioteker. En enkel tilnærming finnes trolig ikke og det synes ikke å være hensiktsmessig her å legge sterke føringer i detalj da slikt trolig bør skje i en form av konsensus, men en rekke anbefalinger kan likevel gis.

PROBLEMOMRÅDE 1 -

MALDI-TOF ID er ikke en gullstandard. Begrensninger inklusive omfanget av hvilke species som er dekket og «matching hints» må være godt kjent av brukere.

PROBLEMOMRÅDE 2 -

Omfanget av oppdateringer og taksonomiske endringer kan være betydelige og arbeidskrevende.

PROBLEMOMRÅDE 3 -

Taksonomiske endringer inkludert i biblioteksoppdateringer kan ikke aksepteres uten videre, men må «valideres» lokalt av kompetente brukere.

PROBLEMOMRÅDE 4 -

Endringer i taksonomi, begrensninger i databaser referanse spektre og valg av rapporteringsformat til kliniker har konsekvenser utover det enkelte mikrobiologiske laboratorium og bør være konsensusorientert (overvåking etc.)

PROBLEMOMRÅDE 5 -

Konsensus om bruk av ny nomenklatur vil trolig være vanskelig å oppnå uten kjøreregler for en selvstendig arbeide komité – om en slik komité skal etableres, foreslås første mandat å være å utarbeide slike.

REFERANSER

1. Khot PD, Couturier MR, Wilson A, Croft A, Fisher MA. Optimization of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry analysis for bacterial identification. *J Clin Microbiol.* 2012;50(12):3845-52.
2. Wayne LG. International Committee on Systematic Bacteriology: announcement of the report of the ad hoc Committee on Reconciliation of Approaches to Bacterial Systematics. *Zentralbl Bakteriell Mikrobiol Hyg A.* 1988;268(4):433-4.
3. Janda JM. Proposed nomenclature or classification changes for bacteria of medical importance: taxonomic update 5. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2020;97(3):115047.
4. Oren A, Arahal DR, Göker M, Moore ERB, Rossello-Mora R, Sutcliffe IC. International Code of Nomenclature of Prokaryotes. Prokaryotic Code (2022 Revision). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 2023;73(5a).
5. Baron EJ, Allen SD. Should Clinical Laboratories Adopt New Taxonomic Changes? If So, When? *Clinical Infectious Diseases.* 1993;16(Supplement_4):S449-S50.
6. Janda JM. Clinical Decisions: How Relevant is Modern Bacterial Taxonomy for Clinical Microbiologists? *Clinical Microbiology Newsletter.* 2018;40(7):51-7.
7. Wyres KL, Lam MMC, Holt KE. Population genomics of *Klebsiella pneumoniae*. *Nature Reviews Microbiology.* 2020;18(6):344-59.
8. Kidd SE, Abdolrasouli A, Hagen F. Fungal Nomenclature: Managing Change is the Name of the Game. *Open Forum Infectious Diseases.* 2023;10(1).
9. Morris ZS, Wooding S, Grant J. The answer is 17 years, what is the question: understanding time lags in translational research. *Journal of the Royal Society of Medicine.* 2011;104(12):510-20.

10. Becker K, Schaumburg F, Kearns A, Larsen AR, Lindsay JA, Skov RL, et al. Implications of identifying the recently defined members of the *Staphylococcus aureus* complex *S. argenteus* and *S. schweitzeri*: a position paper of members of the ESCMID Study Group for Staphylococci and Staphylococcal Diseases (ESGS). *Clinical Microbiology and Infection*. 2019;25(9):1064-70.
11. Lotte R, Lotte L, Ruimy R. *Actinotignum schaalii* (formerly *Actinobaculum schaalii*): a newly recognized pathogen—review of the literature. *Clinical Microbiology and Infection*. 2016;22(1):28-36.
12. Borman AM, Johnson EM. Changes in fungal taxonomy: mycological rationale and clinical implications. *Clin Microbiol Rev*. 2023;36(4):e0009922.
13. de Hoog S, Walsh TJ, Ahmed SA, Alastruey-Izquierdo A, Alexander BD, Arendrup MC, et al. A conceptual framework for nomenclatural stability and validity of medically important fungi: a proposed global consensus guideline for fungal name changes supported by ABP, ASM, CLSI, ECMM, ESCMID-EFISG, EUCAST-AFST, FDLC, IDSA, ISHAM, MMSA, and MSGERC. *J Clin Microbiol*. 2023;61(11):e0087323.
14. NORM/NORM-VET 2023. Usage of Antimicrobial Agents and Occurrence of Antimicrobial Resistance in Norway. Tromsø / Ås / Oslo 2024. ISSN:1502-2307 (print) / 1890-9965 (electronic)

Sammendrag 04 Når «Maldi» er nede.

Identifikasjon når Maldi-TOF MS «er nede»

Forfatter: Anita Kanestrøm, Senter for laboratoriemedisin, Sykehuset Østfold Kalnes, anita.kanestrom@so-hf.no,

FORSLAG TIL ANBEFALINGER (RØD SKRIFT = TIL DISKUSJON KONTROVERSIELLE)

ANBEFALING FOR URINPRØVER

- Bruk av kromogene agarskåler til identifikasjon kan anses tilstrekkelig for polikliniske prøver, og for inneliggende pasienter med ukomplisert UVI.
- Laboratorier som benytter laktoseskål eller MacConkey kan besvare laktosepositive *E. coli* ut fra fenotypi. For øvrige gram-negative staver anbefales 3-rørsforgjæring. Vurder om salmonella-agglutinasjon skal utføres på laktose-negative, H₂S-positive bakterier.
- For enterokokker anbefales PYR-test, sulfa- og tellurlapp.
- For å påvise gruppe B-streptokokker anbefales agglutinasjonstest. Selektiv kromogen agar kan vurderes for gravide.

ANBEFALING FOR POSITIVE BLODKULTURER OG SPINALVÆSKE

- Mikroskopi av grampreparat utføres for rask presumpativ diagnostikk.
 - Ved funn av gram-positive kokker i kjeder eller diplo, anbefales streptokokk- og/eller pneumokokk-agglutinasjon. Alternativt kan spesifikk PCR for f.eks GAS, GBS osv benyttes.
 - Meningokokk-agglutinasjon bør utføres ved funn av gram-negative diplokokker. Alternativt kan spesifikk PCR for meningokokker og eventuelt kapseltype benyttes.
 - Koagulase kan benyttes ved funn av gram-positive kokker i hauger.
 - Spesifikk PCR for andre bakterier, som *H.influenzae* og *Listeria* kan benyttes etter vurdering av gram-preparat og klinikk.
- Kommersielle ID-systemer bør bekrefte presumpativ identifikasjon, men krever vekst på skål.
- Ved tilgang til genteknologiske tester med brede blodkultur- eller CNS panel, kan disse benyttes for alvorlig syke pasienter.

ANBEFALING FOR PUSS- OG SÅRPRØVER

- For polikliniske prøver er det tilstrekkelig med agglutinasjonstester for identifikasjon av beta-hemolytiske streptokokker og *Staphylococcus aureus*, eventuelt koagulase i tillegg. Hvis behov for diagnostikk av enterokokker og gram-negative staver, foreslås diagnostiske lapper og 3-rørsforgjæring.
- Dype- eller peroperative prøver: Foreløpig svar gis ut fra mikroskopi og eventuelt agglutinasjon. Det bør utføres biokjemisk identifikasjon.
- Sårprøver fra inneliggende pasienter: Kan behandles som polikliniske prøver ved mindre alvorlig infeksjon. Ved alvorlig infeksjon følges opplegg som for dype prøver.

ANBEFALING FOR LUFTVEISPRØVER

- For diagnostikk av de vanlige luftveispatogene bakteriene, vil en kombinasjon av agglutinasjon, oksidase og diagnostiske lapper oftest være tilstrekkelig.
- Ved behov for identifikasjon av andre mikrober (intensivpasienter, immunsupprimerte etc), er biokjemiske ID-systemer aktuelle. Genteknologiske tester for luftveisprøver med brede bakteriepanel vil gi raskere diagnostikk for denne pasientgruppen.

ANBEFALING SOPPDIAGNOSTIKK

- Ved ukomplisert, overfladisk soppinfeksjon kan vekst av gjærsopp svares ut fra fenotypi på sabouraud-agar, eventuelt med tillegg av våtpreparat.

- Identifikasjon med kromogen agar kan være tilstrekkelig ved mindre alvorlige gjærsopp-infeksjoner.
- For alvorlige og systemiske soppinfeksjoner må videre diagnostikk utføres. Aktuelle tester kan være:
 - For gjærsopp: inkubering ved ulike temperaturer, kimrørtest, biokjemiske identifikasjonssystemer.
 - For muggsopp: morfologisk identifikasjon med mikroskopi.
 - Det henvises ellers til Strategirapport om soppinfeksjoner, 2013.

ANBEFALING ANAEROBE BAKTERIER

- Mange anaerobe infeksjoner er polymikrobielle, og artsidentifikasjon er ofte av mindre betydning. Ved monokultur og vekst fra sterile områder, dype abscesser og nekrotiserende bløtvevsinfeksjoner, bør det tilstrebes identifikasjon.
- Spredning aerobt og anaerobt skiller fakultative mikrober fra strikt anaerobe. Metronidazol-lapp kan være nyttig.
- Gram-preparat, koloniutseende (sverming, hemolyse) og vekst på selektiv agar (f.eks BBE-agar) må vurderes.
- Kommersielle ID-systemer basert på biokjemi kan utføres.

DISKUSJONSPUNKTER

- Hva skal kravet til validering være for tester som vi har i beredskap? Gjelder samme krav til IVDR-godkjenning?
- Hvordan sikre rask tilgang på back-up diagnostikk, dersom holdbarhet tilsier at man ikke kan ha tilstrekkelig lager på laboratoriet?
 - Kan en løsning være å sende ferdig inokulert target plate til nærmeste samarbeidende laboratorium for Maldi-identifikasjon?
- Bør vi unngå katalase på grunn av aerosoldannelse? Testen må utføres i LAF-benk, eventuelt også i petriskål med lokk.

PROBLEMSTILLING

Massespektrometri har en nøkkelrolle for identifikasjon av bakterier og sopp i medisinsk mikrobiologi. Metoden er rask, billig og har god kvalitet for mange mikrober, og brukes i utstrakt grad. Men MALDI ToF-instrumentet kan svikte, og det er derfor behov for en plan for alternativ diagnostikk. I dette innlegget vil jeg gå gjennom alternative metoder for identifikasjon, og skissere en mulig back-up løsning for ulike prøvematerialer.

OVERSIKT ALTERNATIVE IDENTIFIKASJONSMETODER

Denne oversikten er ikke uttømmende, men gir en oversikt over identifikasjonsmetoder som i stor utstrekning var i bruk før innføring av MALDI ToF i mikrobiologiske laboratorier. Hvert enkelt laboratorium må lage en plan for alternative identifikasjonsmetoder når MALDI ToF er ute av drift. Ulike tiltak kan være aktuelle ut fra forventet lengde på nedetid.

ENKLE, RASKE METODER

Mikroskopi av gram-preparat benyttes ved direktemikroskopi av ulike prøvematerialet, særlig sterile væsker og positive blodkulturer. Hvis Maldi TOF ikke er tilgjengelig, vil gram være aktuell å utføre i større grad også fra vekst på agarskåler.

Oksidase er en rask, enkel og billig test, og kan benyttes som silemetode for videre diagnostikk. Testen kan påvise oksidasepositive bakterier i blandingskultur, eksempelvis meningokokker, gonokokker, *Moraxella catarrhalis* og *Pseudomonas* spp. I sårprøver kan oksidase være nyttig når en leter etter «brakkvannsbakterier» (*Vibrio* spp, *Shewanella* spp).

Katalase er en rask, enkel og billig basalttest, men må utføres i sikkerhetskabinett og lukket petriskål på grunn av aerosoldannelse og risiko for laboratoriesmitte. Testen kan for eksempel benyttes til å

skille mellom stafylokokker og enterokokker. Katalase og oksidase ble tidligere benyttet som basaltester for identifikasjon av små gram-negative staver, som HACEK.

Koagulasetesten skiller *S.aureus* fra koagulase-negative stafylokokker. Testen utføres i rør med fibrinholdig plasma, og leses av etter 4 timer og 1 døgn. Enkelte andre stafylokokkarter er også koagulasepositive (*S.pseudintermedius*, *S.intermedius* og *S.hyicus*, som er assosiert med zoonoser).

Galleløselighet: Gallesalter gir autolyse av pneumokokker, og skiller denne bakterien fra viridans-streptokokker. Testen kan utføres i rør (inkuberes inntil 3 timer) eller direkte på kolonier på blodagar (inkuberes i 15 – 30 minutter). Galleløselighet skiller bedre mellom *S.pneumoniae* og *S.pseudopneumoniae* enn optochin.

PYR-test: Dette er en test for påvisning av gruppe A-streptokokker og enterokokker. Testen kan utføres i rør (4 timer) eller på skål (10 minutter). Gruppe A-streptokokker og enterokokker er PYR positive, mens gruppe B-streptokokker og *Streptococcus bovis* er PYR-negative.

LAP-test: Brukes sammen med PYR for å differensiere mellom ulike gram-positive kokker. Pneumokokker, gruppe_A streptokokker og enterokokker er LAP-positive, mens andre beta-hemolytiske streptokokker, aerococcer og leukonostoc er LAP-negative.

Revers CAMP-test: Kan benyttes til å identifisere *Clostridium perfringens*. Bakterien gir sammen med en kjent GBS-stamme synergistisk hemolyse på saueblodagar etter 24 timers anaerob inkubering.

DIAGNOSTISKE LAPPER

I denne gruppen inngår diagnostiske lapper som legges på agarskåler med spredning av bakteriellstammen, og eventuell vekst eller hemningssone leses av neste dag.

Bacitracinlapp kan benyttes for identifikasjon av gruppe A-streptokokker, som danner sone rundt lappen, men er ikke veldig spesifikk.

Optochin: Pneumokokker vokser med sone rundt optochinlapp.

X-, V- og XV-lapp: Lappene inneholder vekstfaktorer X og / eller V. Bakterien spredd på agarskål uten blod med de 3 lappene, inkuberes over natt. Vurdert sammen med hemolyse vil vekstforhold rundt lappene, skille *H.influenzae* fra *H.parainfluenzae*, *H.haemolyticus* og *H.parahaemolyticus*.

Tellurtest: Tellur benyttes for å skille *E.faecalis* fra andre enterokokker og streptokokker. *E.faecalis* vokser med sorte kolonier rundt tellur, mens *E.faecium* gir hemningssone eller vokser med små, grå kolonier rundt lappen.

Sulfalapp: Enterokokker er sultaresistente.

AGGLUTINASJONER

Agglutinasjonstester er raske å utføre. Noen tester er beregnet på kulturer, andre til bruk på positive blodkulturflasker eller spinalvæske. I begge tilfeller må man være oppmerksom på faren for uspesifikke agglutinasjon og spontanagglutinasjon, som kan avsløres ved å bruke flere antisera og saltvannstest.

Wellcogen Bacterial Antigen Rapid Latex Agglutination Test er et eksempel på agglutinasjonstest for kvalitativ påvisning av antigen fra gruppe B-streptokokker, *H.influenzae* type B, *S.pneumoniae*, *N.meningitidis* gruppe A, B, C, Y og W135 og *E.coli* K1. Kan utføres på positive blodkulturflasker, spinalvæske og på kolonier.

Agglutinasjonstester for *S.aureus* påviser spesifikke overflateantigener, og skiller *S.aureus* fra andre stafylokokker. De ulike testene kan ha noe ulik sensitivitet for påvisning av MRSA.

Agglutinasjon av streptokokker påviser og differensierer Lancefield-gruppe A, B, C, F og G. Resultatet vurderes sammen med kolonimorfologi og hemolyse. Gruppe D-antigen finnes både hos enterokokker og *S.bovis*/*S.equinus*-komplekset.

For presumtiv identifikasjon av pneumokokker finnes latex agglutinasjonstester for påvisning av kapsel antigen.

Serotyping av meningokokker er viktig for valg av vaksine til nærkontakter, men kan også benyttes som supplement for identifikasjon inntil endelig identifikasjon med for eksempel biokjemi. Det finnes både polyvalente og monovalente antisera. Agglutinasjonstestene påviser kun de kapselkledde meningokokkene. PCR-basert kapselotyping er et alternativ til agglutinasjon.

Agglutinasjon av tarmpatogene: De fleste laboratorier har i dag PCR-diagnostikk for tarmpatogene. Men tarmpatogene, spesielt salmonella, kan isoleres også fra andre prøvematerialer.

Agglutinasjonstester kan da bidra til presumptiv identifikasjon. Kit som Wellcolex Color Salmonella skiller mellom Salmonella serogruppe A, B, C, D, E og G, samt påviser Vi-antigen. Tilsvarende finnes det agglutinasjonskit for Shigella som skiller mellom *S.boydii*, *S.dysenteriae*, *S.flexneri* og *S.sonnei*.

ID BASERT PÅ BIOKJEMISKE REAKSJONER

3-rørs forgjæring: Enkel metode som skiller grovt mellom ulike bakterier innen Enterobacterales. Inkluderer følgende reaksjoner: laktose, glukose, gass, H₂S, mannitol, bevegelighet, indol og urease.

Automatiserte ID-systemer: Mange laboratorier har automatiserte systemer for resistenstesting, som også gir mulighet til identifikasjon basert på biokjemiske reaksjoner, som VITEK og BD Phoenix. Disse systemene har ulike paneler for gram-negative staver og gram-positive bakterier, og eventuelt for kravfulle gram-negative bakterier, anaerobes og sopp. Reagensene har imidlertid kort holdbarhet, og er kostbare å ha i beredskap.

Det finnes også kommersielle identifikasjonssystemer som ikke er koblet til instrumenter, men som kan avleses manuelt eller med mindre avlesere, slik som API-systemene og MicroScan identifikasjonspanel.

KROMOGENE SKÅLER OG SELEKTIVE SKÅLER

Kromogen UTI agar: Gir presumptiv identifikasjon av de viktigste bakterier som gir UVI. Skålene inneholder kromogene stoffer som gjør at enterokokkene danner blå kolonier, og *E. coli* rosa. En indikator gjør at *Proteus* spp., *Morganella* spp. og *Providencia* spp. kan skilles fra henholdsvis *Pseudomonas* spp. og stafylokokker. For sikker identifikasjon av *E. coli* anbefales indol-test. Kromogene skåler kan gi presumptiv identifikasjon av gjærsopp, men må ved alvorlig infeksjon, bekreftet med annen metode.

Andre selektive skåler, som er i bruk for screening, kan benyttes som presumptiv identifikasjon:

Listeria selektiv agar: *L.monocytogenes* hydrolyserer esculin, og vokser med en sort halo på esculinholdige selektive skåler. Noen enterokokker kan også gi en svak eskulinreaksjon.

Selektiv coryneagar: Tellurit agarskål (Hoyle agar) kan benyttes som selektive skål for påvisning av *C.diphtheriae*. Tellurite i skålen inhiberer Gram-negative og en rekke gram-positive bakterier.

C.diphtheriae vokser med grå/sorte kolonier på skålen, men også andre telluritreduserende gram-positive bakterier kan vokse.

GENTEKNOLOGISKE METODER

Det finnes i dag et utvalg av tester for syndromtesting basert på molekylærbiologiske metoder. En del laboratorier benytter disse for utvalgte pasienter, f.eks på positive blodkulturer eller spinalvæsker. Eksempler på slike tester er *BioFire FilmArray ME-* og *BCID-panel*, *Easyplex BloodScreen* og *Easyplex CSF direct*.

Multiplex syndromtesting finnes også for bruk på luftveismateriale (eks *Biofire Filmarray Pneumonia*).

REFERANSER

Manual of Clinical Microbiology. 12th edition. Carroll KC et al. ASM Press, Washington, DC, 2019.

Weist K, Cimbal AK, Lecke C, Kampf G, Rüden H, Vonberg RP. Evaluation of six agglutination tests for Staphylococcus aureus identification depending upon local prevalence of meticillin-resistant S. aureus (MRSA). J Med Microbiol. 2006 Mar;55(Pt 3):283-290.

Kocka FE, Dorigan FD, Abbasi QT, Swiatlo AL, Hubbard-Shepard M. Clinical evaluations of the Wellcolex Colour Shigella and Salmonella tests. Diagn Microbiol Infect Dis. 1992 Jan;15(1):1-4.

O'Hara CM, Tenover FC, Miller JM. Parallel comparison of accuracy of API 20E, Vitek GNI, MicroScan Walk/Away Rapid ID, and Becton Dickinson Cobas Micro ID-E/NF for identification of members of the family Enterobacteriaceae and common gram-negative, non-glucose-fermenting bacilli. C Clin Microbiol. 1993 Dec;31(12):3165-9.

Hata DJ, Hall L, Fothergill AW, Larone DH, Wengenack NL. Multicenter evaluation of the new VITEK 2 advanced colorimetric yeast identification card. J Clin Microbiol. 2007 Apr;45(4):1087-92.

Garza-González E, Camacho-Ortíz A, Rodríguez-Noriega E, Esparza-Ahumada S, Flores-Treviño S, Bocanegra-Ibarias P, Tijerina-Rodríguez L, Morfín-Otero R. Comparison of Matrix-assisted Laser Desorption Ionization Time-of-flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) and the Vitek 2 System for Routine Identification of Clinically Relevant Bacteria and Yeast. *Ann Clin Lab Sci*. 2020 Jan;50(1):119-127.

Ombelet S, Natale A, Ronat JB, Vandenberg O, Hardy L, Jacobs J. Evaluation of MicroScan Bacterial Identification Panels for Low-Resource Settings. *Diagnostics (Basel)*. 2021 Feb 19;11(2):349.

Chaux C, Crepy M, Xueref S, Roure C, Gille Y, Freydiere AM. Comparison of three chromogenic agar plates for isolation and identification of urinary tract pathogens. *Clin Microbiol Infect*. 2002 Oct;8(10):641-5.

Ghelardi E, Pichierri G, Castagna B, Barnini S, Tavanti A, Campa M. Efficacy of Chromogenic Candida Agar for isolation and presumptive identification of pathogenic yeast species. *Clin Microbiol Infect*. 2008 Feb;14(2):141-7.

Berinson B, Both A, Berneking L, Christner M, Lütgehetmann M, Aepfelbacher M, Rohde H. Usefulness of BioFire FilmArray BCID2 for Blood Culture Processing in Clinical Practice. *J Clin Microbiol*. 2021 Jul 19;59(8).

Bio-/labsikkerhet ved identifikasjonsarbeid på lab – Maldi-TOF MS

Forfatter: Truls Leegaard, Avdeling for Mikrobiologi og smittevern, Akershus universitetssykehus

FORSLAG TIL ANBEFALINGER (RØD SKRIFT = TIL DISKUSJON KONTROVERSIELLE)

ANBEFALING 1 – VED IDENTIFIKASJON MED MALDITOF BØR LABORATORIENE GJØRE EN NØYE RISIKOVURDERING OM ARBEID MED UKJENTE MIKROBER OG MIKROBER DER MAN MISTENKER AT DE KAN TILHØRE RISIKOKLASSE 3 ELLER ANDRE HØYRISIKOMIKROBER (F.EKS. MENINGOKOKKER) BØR GJØRES I SIKKERHETSKABINETT. KLASSE 2 TIL ETANOL ER TILSATT. FOR MIKROBER MAN ER GANSKE SIKRE PÅ HVILKEN GRUPPE DE TILHØRER KAN ARBEIDET GJØRES PÅ BENK (F.EKS. ENTEROBACTERALES, STAFYLOKOKKER, STREPTOKOKKER, MM).

ANBEFALING 2 – EKSTRAKSJON MED ETANOL OG MAURSYRE BØR BENYTTES PÅ ISOLATER MAN MISTENKER KAN TILHØRE RISIKOKLASSE 3 ELLER ANDRE HØYRISIKOMIKROBER.

ANBEFALING 3 – MAN BØR VURDERE BRUK AV BESKYTTELSESUTSTYR.

ANBEFALING 4 - LOKAL RISIKOVURDERING ER ALLTID VIKTIG, OG LABORATORIENES BØR HA EN PLAN FOR NÅR DET KAN VÆRE BEHOV FOR PROFYLAKSE VED EKSPONERING.

ANBEFALING 5 - ALLE LABORATORIER BØR HA TILGANG TIL BIOTERROR-DATABASEN (SR-DATABASEN).

AVGRENSNINGER RELEVANTE PROBLEMSTILLINGER

Bakgrunn

Arbeidstilsynet definerer laboratorier som risikofylte arbeidsplasser som krever tiltak for å beskytte arbeidstakerne. Risiko på mikrobiologiske laboratorier er knyttet til både eksponering mot kjemikaler og mikroorganismer. Menneskelige faktorer som manglende bruk av personlig beskyttelsesutstyr, manglende prosedyrer og risikoevalueringer, prosedyrer som ikke følges og manglende opplæring av personalet er antatt å være årsak til flest laboratorieassosierte infeksjoner (CDC/NIH, 2009).

Laboratorieassosiert infeksjon er definert som en infeksjon som følge av smitte via laboratoriet eller laboratorierelatert arbeid. Risikoen for utvikling av sykdom ved eksponering er avhengig av:

1. **Biologisk agens** (smitterisikogruppe, infeksjons dose, smittemåte, evne til å gi alvorlig sykdom og død hos den infiserte, tilgjengelig behandling).
2. **Form for eksponering** (Aerosoldannende prosedyrer, skarpe gjenstander og risiko for perkutan eksponering).
3. **Den som eksponeres** (Helsestatus til laboratoriepersonell, immunitet, tilgjengelig vaksinasjon).

Tabell med bakterier og sopp tilhørende **risikoklasse 3**.

(<https://www.arbeidstilsynet.no/regelverk/forskrifter/forskrift-om-tiltaks--og-grenseverdier/vedlegg/2/>)

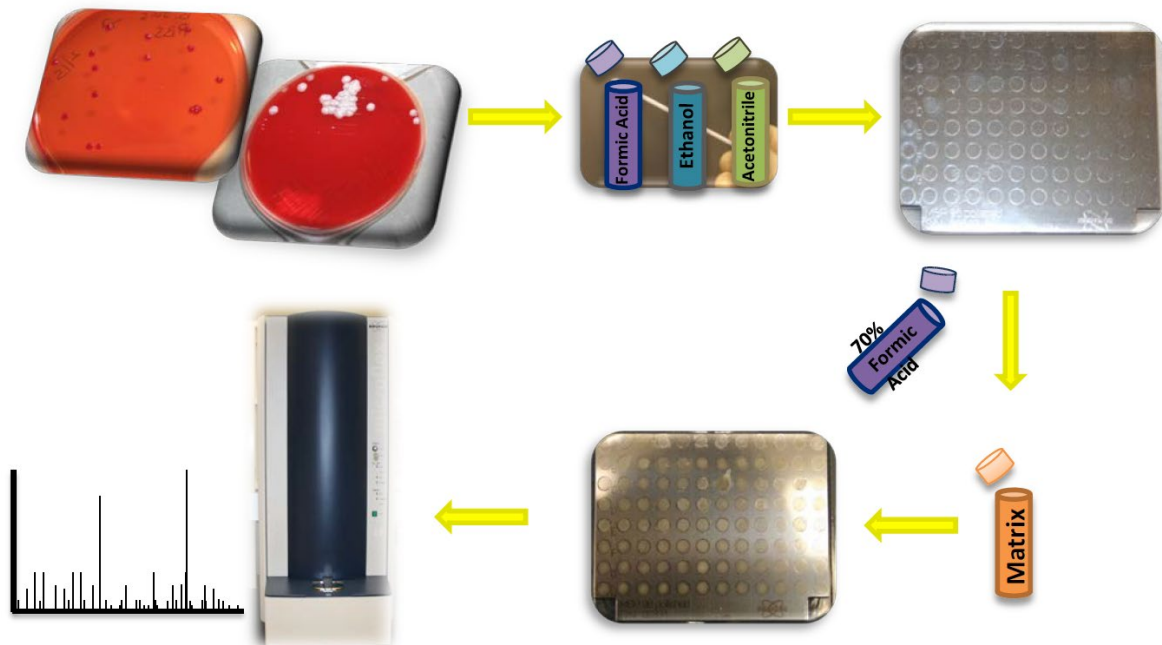
<i>Bacillus anthracis</i>
<i>Brucella</i> spp.
<i>Burkholderia mallei</i> og <i>pseudomallei</i>
<i>Coxiella burnetii</i>
Dimorfe sopp – med noen unntak
Enkelte muggsopp – bl.a. <i>Rhinoctadiella mackenzii</i> og <i>Cladophialophora bantiana</i>
<i>E. coli</i> , vero-(shiga-) cytotoxiske stammer (VTEC/EHEC)
<i>Francisella tularensis</i> subspecies <i>tularensis</i>
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> complex

Rickettsia spp.
Salmonella Typhi
Shigella dysenteriae (type 1)
Yersinia pestis

Ansatte ved norske mikrobiologiske laboratorier har gjennom gode prosedyrer og opplæring av personalet innarbeidet risikovurdering. Risikovurdering utføres basert på kliniske opplysninger og prøvemateriale. Fullstendige kliniske opplysninger og risiko oppgis ikke alltid på rekvisisjonene, slik at man må ta høyde for at det kan være høyrisikomikrober til stede som man ikke kan forutse.

Det er foreløpig ikke mye data på sikkerhet i forbindelse med nye metoder for identifisering. Det gjelder også for MaldiTof. Man baserer seg på risikovurderinger og erfaringer med høyrisikomikrober man har fra tidligere. Ofte er det avhengig av at noen reagerer på kliniske opplysninger eller sykdomsbilde, dvs. en svært subjektiv vurdering.

Ulike laboratorier har ulike forutsetninger. Laboratorier uten tilgang til BSL3-laboratorium må rigge seg slik at man kan arbeide godt, trygt og effektivt ved ulike laboratorier. I dag foregår mye av arbeidet med å sette mikrobene på identifikasjonsplatene på benk. I alle fall dersom man ikke har mistanke om høyrisikomikrober. *Illustrasjon av arbeidsflyten ved identifikasjon av mikrober med MaldiTof*



Uttrekk fra egen prosedyre, kun delen om HMS – som bakgrunn for diskusjon:

Alle prøver og stammer skal behandles som infeksjøs materiale, og håndteres deretter.

Prøvepreparering av **bakterier** og **gjærsopp** kan som hovedregel foregå på benk.

Prøvepreparering av **muggsopp** og **dermatofytter** utføres i sikkerhetskabinett klasse 2 for å unngå spredning av sopp sporer i laboratoriet. Se eget punkt for detaljer.

Benytt de sikkerhetsforanstaltninger man vanligvis benytter- f.eks. bør arbeid med **meningokokker** eller med uavklarte blodkulturisolat foregå i sikkerhetskabinett klasse 2.

MALDI-TOF skal IKKE gjøres ved mistanke om sporedannende bakterier som krever BSL3, det vil si ikke-hemolytisk bacillus, **Bacillus anthracis**.

Ved **direkte MALDI på blodkulturflaske** skal arbeidet foregå i sikkerhetskabinett klasse 2 til etanol er tilsatt.

Dersom MALDI-TOF ønskes på **mistenkte patogene mikrober fra fæces- eller BSL3 laboratoriet**, gjøres alltid ekstraksjon. Arbeidet foregår på fæces- eller BSL3 laboratoriet til etanol er tilsatt.

Reagenser som brukes ved analyseringen er helseskadelige. Unngå søl på hud og i øynene.

Ved arbeid med maursyre (formic acid) skal hansker og briller/vernebriller benyttes.

Ved håndtering av trifluoroacetic syre skal vernebriller benyttes (i tillegg til hansker) eller så må heveluken være nedtrykket slik at ansiktet er beskyttet for eventuell sprut.

Reagensfremstilling og vasking av plater foregår i kjemisk avtrekk. Det finnes hansker med lange mansjetter som kan brukes ved vask av plater. Se eget punkt.

Gravide skal ikke utføre arbeid i kjemisk avtrekk der fargevæskene står.

PROBLEMOMRÅDER

Spørsmål:

- Eksponering for kjemikaler?
- Eksponering og aerosoldannelse – bør alle prøver håndteres i sikkerhetskabinett?
- Dersom man ikke tar alle prøver i kabinett – bør man da bruke personlig sikkerhetsutstyr?
- Blir agens inaktivert? Hva inaktiverer hva og hvor godt?
- Bør alle laboratorier ha tilgang til bioterror-databasen (SR-databasen)?
- Profylakse ved eksponering?
- Nullprøve serologi ved eksponering?

Diskusjon

Laboratoriene har vurdert at kjemikaliene kan håndteres adekvat. Det bør tas hensyn til at gravide ikke kan utføre visse oppgaver.

Selv om det hittil ikke har vært noen kjente smittetilfeller ved arbeid på benk i forbindelse med MaldiToF er det mange usikkerhetsfaktorer når vi identifiserer mikrober ved hjelp av MaldiToF. Vi vet ofte ikke hva vi har med å gjøre. Ved identifikasjon med MaldiToF bør laboratoriene gjøre en nøye risikovurdering om arbeid med ukjente mikrober og mikrober der man mistenker at de kan tilhøre risikoklasse 3 eller andre høyrisikomikrober (f.eks. meningokokker) bør gjøres i sikkerhetskabinett klasse 2 til etanol er tilsatt. Etablert arbeidsrutiner i eget laboratorium gjør forskjell på blodkulturisolater og andre isolater. Blodkulturisolater tilsettes etanol før direkte MaldiToF-identifikasjon. Dette gjøres i kabinett. Etter at blodkulturene er tatt ut av sikkerhetskabinettet tilsettes alle prøvene maursyre. For mikrober der man er ganske sikre på hvilken gruppe de tilhører gjøres arbeidet på benk (f.eks. Enterobacterales, stafylokokker, streptokokker, mm), selv uten tilsetning av etanol og/eller maursyre. Ved å flytte en del arbeid inn i sikkerhetskabinett kan laboratorier uten BSL3-laboratoriefasiliteter også kan arbeide risikofritt. MaldiToF bør ikke benyttes til identifikasjon ved mistanke om ikke-hemolytisk bacillus (*Bacillus anthracis*), men dersom man gjør direkte MaldiToF-identifikasjon er det mulig at enkelte høypatogene mikrober allikevel kan bli håndtert. Dersom man må vente til Gram er utført, vil det forsinke prøvehåndteringen. Hva er så risikoen ved det? Husk at kontaktsmitte ved f.eks. *F. tularensis* også er mulig (om man ikke bruker hansker ved håndtering av materiale før inaktivering med etanol og/eller maursyre)

Det vil sannsynligvis være ulik håndtering i labber med ulikt inneslutningsnivå. Lokal risikovurdering er alltid viktig, og bør være en del av egne prosedyrer.

Utprøvinger har vist at direkte ekstraksjon ikke inaktiverer agens i alle tilfeller, mens etanol inaktivering med etterfølgende maursyre ekstraksjon inaktiverer agens som ikke er sporedannere (Lasch 2015, Cunningham, 2013). Til inaktivering av sporer anbefales Trifluorediksyre (TFA) (Lasch, 2008), og har vært benyttet med helle av flere (Pauker 2018).

Vi vet ofte ikke hva vi arbeider med før identifikasjon og er avhengige av at database gir rett identifikasjon. Flere laboratorier har tilgang på SR-databasen, og har erfaringer med at den gir god identifikasjon dersom det dreier seg om en høypatogen bakterie, f. eks en *Brucella* spp., *Francisella* spp. eller en *Burkholderia* spp, men at den ikke skiller godt mellom beslektede arter og underarter (inkludert de som er mindre patogene). Den kan altså fint brukes til å få indikasjon på genus, men videre identifikasjon bør gjøres på referanselaboratorium (f.eks. Beredskapslaboratoriet på FHI). Se også artiklene fra Lasch et al og Antonation et al. De viser at man får forskjellig resultat ved bruk av de forskjellige databasene som er tilgjengelige. I Brukers SR-bibliotek kan man velge mellom liste 1 og 2 (se under).

Fordelen ved ha lokal tilgang til bioterror (SR-databasen) databasen er at man kan få en rask diagnose. Det tar i mange tilfeller lang tid å få svar fra et region-/referanse-laboratorium som har en slik database. Vi mener kostnaden dersom noen blir smittet på laboratoriene er for høy og at man ikke kan ta den risikoen.

Dersom kliniske opplysninger og kolonimorfologi gir sterk mistanke om høyrisiko patogen mikrobe bør man fortsatt ta kontakt med beredskapslaboratoriet ved FHI for analyse. De kan utføre rask analyse ved behov.

Lokal risikovurdering er alltid viktig, og laboratorienes bør ha en plan/ prosedyre for når det kan være behov for profylakse ved eksponering, og bør også si noe om hvem som skal skrive resept og følge opp den ansatte (bør journalføres). Man bør også sørge for serologisk nullprøve ved eksponering, f.eks. ved *Francisella* og *Brucella*.

Release Notes

MBT Compass Library

Revision K (2022)



Table 1: List of species included in 'SR' Library. Bold font indicates the different genera.

No.	Species
1	Bacillus anthracis
2	Brucella melitensis
3	Burkholderia mallei
4	<i>Burkholderia pseudomallei</i>
5	Clostridium botulinum
6	Francisella tularensis
7	Salmonella paratyphi
8	<i>Salmonella typhi</i>
9	Shigella dysenteriae
10	Vibrio cholerae
11	Xanthomonas albilineans
12	Yersinia pestis

Table 2: List of species included in 'SR_BBFV' Library. Bold font indicates the different genera.

No.	Species
1	Brucella melitensis
2	Burkholderia mallei
3	<i>Burkholderia pseudomallei</i>
4	Francisella tularensis
5	Vibrio cholerae

Note: Without installation of BTyp2.0Sec.Library 1.0 the highly pathogenic microorganisms included in this library cannot be correctly identified.

Highly pathogenic microorganisms not included in the BTyp2.0Sec.Library 1.0 (e.g. *Bacillus anthracis*) cannot be identified or will be commented within the Matching Hints of closely related less pathogenic microorganisms included in the MBT Compass Library (e.g. *Bacillus cereus*).

Internasjonalt er det flere rapporter om laboratoriesmitte. De fleste av disse rapportene er gamle, men det finnes noen nyere (f.eks. Baron, 2008). Selv om vi kan håpe at laboratoriene er blitt flinkere til å håndtere risikomikrober, er det noen kjente tilfeller av laboratoriesmitte i Norge. De fleste assosiert med jobb på benk, uten beskyttelse. Her nevnes to tilfeller, som eksempler:

- Det har vært ett tilfelle av laboratoriesmitte med *Brucella* der to medarbeidere ble smittet. For den første av disse vet man ikke hva som er kilden, mens medarbeider nummer to hadde jobbet med blodkulturen til den første. Medarbeider nummer to fikk også positiv blodkultur. Etter det ble alle aerosoldannende prosedyrer flyttet i avtrekk. Det gikk bra med begge.
- Et annet tilfelle var med meningokokker, der en medarbeider «bare» skulle spre en skål før vedkommende gikk hjem for dagen, og ikke satte seg i avtrekket. Vedkommende ble syk neste dag, veldig syk, men ble reddet av en årvåken kollega som sende medarbeideren direkte til akuttmottaket. Blodkultur var positiv, men det gikk bra i dette tilfellet.

I det ene tilfellet var det snakk om en mikrobe som tilhører høyrisikoklasse 3. I det andre tilfelle *Neisseria meningitidis* som ikke er i klasse 3. Det er altså andre mikrober enn de i den høyeste risikoklassen som kan gi alvorlige infeksjoner og som man må ta høyde for når man arbeider med ukjente mikrober.

REFERANSER

Referanser

- Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Eds. L. Casey Chosewood and Deborah E. Wilson, 5th Edition, 2009, Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health, HHS Publication No. (CDC) 21-1112
- Rudrik JT, Soehnlen MK, Perry MJ, Sullivan MM, Reiter-Kintz W, Lee PA, Pettit D, Tran A, Swaney E. 2017. Safety and accuracy of matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry for identification of highly pathogenic organisms. *J Clin Microbiol* 55:3513-29
- Lasch P, Wahab T, Weil S, Pályi B, Tomaso H, Zange S, Kiland Granerud B, Drevinek M, Kokotovic B, Wittwer M, Pflüger V, Di Caro A, Stämmeler M, Grunow R, Jacob D. Identification of Highly Pathogenic Microorganisms by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry: Results of an Interlaboratory Ring Trial. *J Clin Microbiol* 2015; 53: 2632-40
- Manzulli V, Rondinone V, Buchicchio A, Serrecchia L, Cipolletta D, Fasanella A, Parisi A, Difato L, Iatarola M, Aceti A, Poppa E, Tolve F, Pace L, Petruzzi F, Rovere ID, Raelle DA, Del Sambro L, Giangrossi L, Galante D. Discrimination of *Bacillus cereus* Group Members by MALDI-TOF Mass Spectrometry. *Microorganisms* 2021; 9: 1202
- Antonation KS, Tracz DM, Dreger AD, Corbett CR. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry-based identification of security-sensitive bacteria: Considerations for Canadian Bruker users. *Can Commun Dis Rep* 2020; 46: 333–8
- Lasch P, Nattermann H, Erhard M, Stämmeler M, Grunow R, Bannert N, Appel B, Naumann D. MALDI-TOF mass spectrometry compatible inactivation method for highly pathogenic microbial cells and spores. *Anal Chem* 2008; 80: 2026–34
- Pauker VI, Thoma BR, Grass G, Bleichert P, Hanczaruk M, Zöller L, Zange S. Improved Discrimination of *Bacillus anthracis* from Closely Related Species in the *Bacillus cereus* Sensu Lato Group Based on Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry. *J Clin Microbiol* 2018; 56: 10.1128/jcm.01900-17
- Cunningham SA, Patel R. Importance of using Bruker's security-relevant library for Biotyper identification of *Burkholderia pseudomallei*, *Brucella* species, and *Francisella tularensis*. *J Clin Microbiol* 2013; 51: 1639-40
- Ackelsberg J, Liddicoat A, Burke T, et al. *Brucella* Exposure Risk Events in 10 Clinical Laboratories, New York City, USA, 2015 to 2017. *J Clin Microbiol* 2020; 58: e01096-19
- Baron EJ, Miller JM. Bacterial and fungal infections among diagnostic laboratory workers: evaluating the risks. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008; 60: 241-6

Nukleinsyrebaserede metoders rolle i species-identifikasjon

Supplerende nukleinsyrebasert diagnostikk

Forfatter: Øyvind Kommedal, Overlege, Mikrobiologisk avdeling, Haukeland universitetssjukehus.

FORSLAG TIL ANBEFALINGER (RØD SKRIFT = TIL DISKUSJON KONTROVERSIELLE)

ANBEFALING 1 – OM INDIKASJON FOR NUKLEINSYREBASERT IDENTIFIKASJON

- For de aller fleste kliniske problemstillinger vil Maldi-TOF MS gi tilstrekkelig god identifikasjon.
- Supplerende diagnostikk som nukleinsyrebasert identifikasjon er klinisk relevant primært dersom Maldi-TOF MS ikke gir et godkjent svar innenfor det man for det aktuelle isolat mener er det nødvendige taksonomiske nivå (species-nivå, species-gruppe nivå eller genus nivå).

PROBLEMSTILLINGER

Tilleggsidentifikasjon med nukleinsyrebaserede metoder kan være aktuelt når man ikke får en sikker identifikasjon med Maldi-TOF. Typiske problemstillinger kan være at Maldi-TOF ikke gir en tilstrekkelig høy score for artsidentifikasjon, at Maldi-TOF ikke klarer å skille mellom nært beslektede arter eller at man får en lavere score enn normalt for en velkjent art (1, 2). De mest relevante metodene er Sanger-sekvensering av enkeltgener, artsspesifikke PCR analyser og helgenomsekvensering. Tilleggsidentifikasjon er sjelden nødvendig på ren klinisk identifikasjon, men er aktuelt i forbindelse med kvalitetssikring, forskning, registerdata eller utvikling av databaser.

RELEVANTE NUKLEINSYREBASERTE METODER

Sanger-sekvensering av enkeltgener: For bakterier er 16S rRNA genet er det mest brukte målgenet for dette formålet. De største fordelene med 16S rRNA genet er at de fylogenetiske egenskapene er godt forstått og at det finnes tilgjengelige referanser for de aller fleste kjente bakterier. I tillegg finnes genet i alle bakterier, og inkluderer høyt konserverte områder som gjør det mulig å designe universelle primere slik at genet kan amplifiseres fra enhver bakterie med en enkelt universell PCR (3). Den største ulempen er at oppløsningen er for lav til å skille mellom en del nært beslektede arter innenfor en rekke klinisk relevante slekter som for eksempel streptokokker, stafylokokker, enterokokker, Klebsiella, Enterobacter, mykobakterier, fusobakterier, Eikenella, Bacteroides og Veillonella (3–5). RpoB-genet er et alternativ til 16S rRNA genet og gir bedre oppløsning innenfor de aller fleste bakteriearter (3–5). Nylig ble det publisert universelle rpoB-primere, som muliggjør amplifikasjon av rpoB genet fra de fleste bakteriearter med en enkelt rpoB-PCR (4). Fremdeles mangler rpoB referanser for en del arter, men dette problemet reduseres raskt som følge av det økende antallet helgenomsekvenser som publiseres. Dersom problemstillingen er at Maldi-TOF gir en for lav score for artsidentifikasjon vil 16S rRNA sekvensering være et naturlig førstevalg på grunn av et mer komplett utvalg av referanser. Hvis problemstillingen er at Maldi-TOF ikke kan skille mellom ulike arter eller gir en lavere score enn normalt for en velkjent art kan rpoB sekvensering være et bedre alternativ. For sopp benyttes oftest ITS1 eller ITS2 segmentet eller den første delen av 28S rRNA genet for universell identifikasjon (3, 6). Det er viktig å vite at ITS1/2 skal benyttes som en genetisk

barkode og ikke et fylogenetisk kronometer, hvilket betyr at kun svært høy homologi mot en referanse vil gi nyttig informasjon (7, 8). 28S rRNA genet gir lavere oppløsning enn ITS segmentene, men er lettere å tolke.

Artsspesifikke PCR-analyser: Artsspesifikke PCR-analyser kan være nyttige for å bekrefte en identifikasjon eller skille mellom nært beslektede arter, dersom man allerede har den/de relevante analysene tilgjengelig i laboratoriet. F.eks. kan en spesifikk PCR for *Streptococcus pneumoniae* være nyttig for å skille mellom *S. pneumoniae* og andre nært beslektede arter i *Streptococcus mitis*-gruppen.

NB: For både sekvensering av enkeltgener og spesifikke PCR analyser er horisontal genoverføring en mulig feilkilde (4). Dette problemet er svært lite for 16S rRNA Sanger sekvensering, siden 16S rRNA genet foreligger som et multikopi gen hos de fleste arter slik at den «riktige» varianten uansett vil dominere i sekvens-kromatogrammet.

Helgenomsekvensering er en gullstandardanalyse for bakteriell identifikasjon. Den vil være mest relevant for å skille mellom nært beslektede arter når man ikke har kommet i mål med enklere analyser, eller at man av andre årsaker har behov for en utvidet genomisk analyse (forskning/registerdata, utbruddskartlegging, inklusjon av isolater i databaser/stammebanker). Det finnes innenfor en rekke slekter uløste taksonomiske problemstillinger og ikke-karakteriserte arter. Dette kan gjøre det vanskelig å komme frem til en sikker artsidentifikasjon selv med bruk av helgenomsekvensering. Et klassisk eksempel er *S. mitis* gruppen der én autorativ artikkel fraråder bruk av ANI (Average Nucleotide Identity) for å beskrive nye arter da dette ville ført til at de nåværende artene *Streptococcus mitis* og *Streptococcus oralis* som begge er meget diverse splittes opp i flere ti-talls nye arter (9), mens senere publikasjoner beskriver og får godkjent nye arter innenfor *S. mitis* gruppen nettopp ved bruk av ANI (10–12).

REFERANSER

1. Stormo KA, Nygaard RM, Bruvold TS, Dimmen G, Lindemann PC, Jordal S, Kommedal Ø. 2020. *Eikenella exigua* sp. nov., isolated from brain abscess and blood. *Int J Syst Evol Microbiol* 70:1478–1488.
2. Sivertsen A, Dyrhovden R, Tellevik MG, Bruvold TS, Nybakken E, Skutlaberg DH, Skarstein I, Kommedal Ø. 2022. *Escherichia marmotae*—a Human Pathogen Easily Misidentified as *Escherichia coli*. *Microbiol Spectr* 10:e02035-21.
3. Petti CA, Brandt ME, Church DL, Emler S, Simmon K, Zelazny AM. 2018. *MM18, Interpretive Criteria for Identification of Bacteria and Fungi by Targeted DNA Sequencing*, 2nd edition.
4. Bivand JM, Dyrhovden R, Sivertsen A, Tellevik MG, Patel R, Kommedal Ø. 2024. Broad-range amplification and sequencing of the *rpoB* gene: a novel assay for bacterial identification in clinical microbiology. *J Clin Microbiol* e0026624.
5. Adékambi T, Shinnick TM, Raoult D, Drancourt M. 2008. Complete *rpoB* gene sequencing as a suitable supplement to DNA–DNA hybridization for bacterial species and genus delineation. *Int J Syst Evol Microbiol* 58:1807–1814.

6. Khot PD, Ko DL, Fredricks DN. 2009. Sequencing and analysis of fungal rRNA operons for development of broad-range fungal PCR assays. *Appl Environ Microb* 75:1559–65.
7. Coleman AW. 2003. ITS2 is a double-edged tool for eukaryote evolutionary comparisons. *Trends Genet* 19:370–375.
8. Nilsson RH, Anslan S, Bahram M, Wurzbacher C, Baldrian P, Tedersoo L. 2019. Mycobiome diversity: high-throughput sequencing and identification of fungi. *Nat Rev Microbiol* 17:95–109.
9. Jensen A, Scholz CFP, Kilian M. 2016. Re-evaluation of the taxonomy of the Mitis group of the genus *Streptococcus* based on whole genome phylogenetic analyses, and proposed reclassification of *Streptococcus dentisani* as *Streptococcus oralis* subsp. *dentisani* comb. nov., *Streptococcus tigurinus* as *Streptococcus oralis* subsp. *tigurinus* comb. nov., and *Streptococcus oligofermentans* as a later synonym of *Streptococcus cristatus*. *Int J Syst Evol Microbiol* 66:4803–4820.
10. Wajima T, Hagimoto A, Tanaka E, Kawamura Y, Nakaminami H. 2022. Identification and characterisation of a novel multidrug-resistant streptococcus, *Streptococcus toyakuensis* sp. nov., from a blood sample. *J Glob Antimicrob Resist* 29:316–322.
11. Diouf FS, Beye M, Gaye M, Mbaye B, Alibar S, Sarr M, Dubourg G, Lagier J-C, Sokhna C, Fenollar F, Fournier P-E, Lo CI. 2023. Description of *Streptococcus thalassemiae* sp. nov., a Bacterium Isolated from Human Blood. *Int J Microbiol* 2023:3802590.
12. Martínez-Lamas L, Limeres-Posse J, Diz-Dios P, Álvarez-Fernández M. 2020. *Streptococcus downii* sp. nov., isolated from the oral cavity of a teenager with Down syndrome. *Int J Syst Evol Microbiol* 70:4098–4104.

Maldi-TOF MS identifikasjon direkte fra positiv blodkulturflaske

Forfatter: Aleksandra Jakovljević, Overlege, Avd. for Medisinsk mikrobiologi, St. Olavs Hospital

FORSLAG TIL ANBEFALINGER (RØD SKRIFT = TIL DISKUSJON KONTROVERSIELLE)

ANBEFALING 1: RUTINEMESSIG BRUK AV MALDI-TOF MS FOR DIREKTE IDENTIFIKASJON FRA POSITIVE BLODKULTURFLASKER

- Identifikasjon av bakterier direkte fra blodkulturflasker ved hjelp av MALDI-TOF MS anbefales implementert som del av rutinearbeid på alle mikrobiologiske laboratorier.
- Rask identifikasjon har stor innflytelse på valg av adekvat antibiotikabehandling hos pasienter med sepsis. Den kan også ha en rolle i pasientutredning og for antibiotika-styring.

ANBEFALING 2: HVERT LABORATORIUM KAN VELGE HVILKET MALDI-TOF MS INSTRUMENT SOM BENYTTES, OG OM DET BRUKES EN KOMMERSIELL ELLER IN-HOUSE METODE

- Laboratorier i Norge kan per i dag velge mellom to kommersielle MALDI-TOF MS systemer: MALDI Biotyper® (Bruker Daltonics) og VITEK® MS IVD (bioMérieux)
- For direkte identifikasjon fra blodkultur kan kommersielle kit benyttes: Sepsityper research-use-only (RUO) blodkultur kit (Bruker Daltonics) eller Vitek MS RUO blodkultur kit (bioMérieux), samt flere *in-house* laboratorie-utviklede metoder.
- Hvert laboratorium bør gjøre en selvstendig vurdering av metoden som skal benyttes, inklusive en vurdering av fordeler og ulemper ved bruk av en kommersiell metode versus en *in-house* basert metode.

ANBEFALING 3: TOLKNING AV RESULTATER FRA MALDI-TOF MS BIOTYPER KAN UTFØRES I HENHOLD TIL ANBEFALINGER ANGITT I MBT IVD SEPSITYPER MODUL ELLER VED STANDARD BIOTYPER AVLESNING

- Det finns ikke en standardisert anbefaling for vurdering av resultater fra direkte identifikasjon i forhold til score-verdier.
- Ved bruk av MBT IVD Sepsityper Modul inkludert i Compass programvare på MALDI Biotyper® (Bruker, Daltonics) bør produsentens anbefalinger følges ved tolkning av resultater direkte fra blodkulturflasker. Her er species/genus-score-grensene satt lavere enn ved bruk av Standard Biotyper avlesning, dvs. >1,8 for sikker identifikasjon til species nivå og >1,6 til genus nivå, som er en tilpasning knyttet til direkte identifikasjon.
- Et alternativ ved bruk av *in-house* basert metoder er å bruke Standard Biotyper avlesning for bakterie-kolonier, og tolke resultatene med Bruker sine anbefalte klassifikasjonskriterier for sikker identifikasjon til species- (>2,0) eller genus-nivå (>1,7- <2,0), samt for ingen identifikasjon (<1,7).
- **Vurdering av resultater med lavere score-verdier enn de som er angitt for MBT IVD Sepsityper er utprøvd i flere studier med *in-house* metoder, og kan fortsatt gi pålitelige identifikasjoner, se Problemområde 4: Tolkning av MALDI-TOF resultater/Vurdering av score verdier.**

ANBEFALING 4: TOLKNING AV RESULTATER FOR MALDI-TOF MS VITEK I HVERT LABORATORIUM GJØRES VED EN SELVSTENDIG ETABLERING AV KRITERIER FOR KONSISTENS SAMSVAR («CONFIDENCE MATCH»).

- For tolkning av resultater ved bruk av VITEK MS RUO kit med SARAMIS database fra bioMérieux gjøres en vurdering av funn i forhold til konsistens-samsvar («confidence match») med referansespektrum.
- Laboratorier som vurderer innkjøp av VITEK MS bør være kjent med at faste anbefalinger for tolkning av resultater ikke er satt opp fra produsenten, og derfor bør etableres av brukeren selv. Generelt kan MS spektra som gir identifikasjons verdier fra

60% til 99,9% i forhold til samsvar med referansedatabase tolkes som sikker identifikasjon på species nivå. Hvis det er to, tre eller fire species av samme genus med like høye MS spektra verdier, kan identifikasjon tolkes til genus nivå. Resultatet tolkes som ingen identifikasjon hvis det er ingen samsvar med database eller hvis det er >4 species av samme genus med like høye MS spektra: dette tolkes som konsistens <60% (se Problemområde 4: Tolkning av MALDI-TOF resultater).

AVGRENSNINGER OG RELEVANTE PROBLEMSTILLINGER

Definerte problemområder:

Rask identifikasjon av mikroorganismer fra positive blodkulturflasker er viktig for målrettet antibiotikabehandling av pasienter. Relevante problemstillinger er:

1. Hvordan kan laboratoriet etablere metode for direkte identifikasjon av mikroorganismer fra positive blodkulturflasker?
2. Er det nødvendig med spesielle sikkerhetstiltak ved testing av blodkulturer med mulig smittefarlige mikroorganismer?
3. Hvilken vurdering bør det tas hensyn til ved valg mellom kommersielle og *in-house* metoder?
4. Hvilke score-verdier kan betraktes som pålitelige for direkte identifikasjon når de vurderes sammen med gitte tilleggskriterier?
5. Hvilke bakterie-species gir pålitelige svar ved direkte identifikasjon, og hvilke trenger tilleggstekster/retesting fra koloni for endelig identifikasjon?

PROBLEMOMRÅDE 1

Etablering av metode generelt

Innledning med bakgrunn i metodeaspekter

Adekvat antibiotikabehandling av blodstrøms-infeksjoner (BSI) reduserer mortalitet hos pasienter med sepsis signifikant (1). En studie som undersøkte betydningen av rask mikrobiell identifikasjon direkte fra positive blodkulturflasker fant at dette endret påbegynt behandling hos 13,4% av voksne pasienter og 2,5% av pediatriske pasienter med BSI (2). Molekylære metoder for hurtig direkte identifikasjon av mikroorganismer fra positive blodkulturflasker som dekker de vanligst forekommende agens ved BSI samt et utvalg av resistensgener fins (3), men er dyrt, har bestående identifikasjonshull og erstatter ikke behovet for fullstendig resistensbestemmelse etter dyrkning, og er derfor ikke anbefalt som «stand alone» diagnostikk. MALDI-TOF MS gir rask og god identifikasjon til en lav kostnad for de fleste bakterielle agens som opptrer i blodkulturer, og mikrobepespekteret utvides/forbedres fremdeles som følge av databaseoppdateringer. Identifikasjon av mikroorganismer direkte fra blodkulturflasker krever forbehandling av prøvematerialet for å fjerne ikke-bakterielle proteiner fra flytende medier. De fleste positive blodkulturer (89,6 – 98%) er monomikrobielle og velegnet til direkte MALDI-TOF identifikasjon (4-9). I tillegg er det vanlig med høy konsentrasjon av mikroorganismer ($\geq 10^8$ CFU/ml) i positive blodkulturflasker. Dette nivået er godt over grensen for vellykket MALDI-TOF identifikasjon fra blodkulturflasker (10^4 til 10^5 CFU/ml) (10). Lav mikrobekonsentrasjon, sent positivt signal (>48 timers inkubasjon) og påfølgende dårlige score-verdier forekommer hyppigst ved funn av kontaminasjonsflora fra huden (11), og i noen tilfeller ved funn av sikre patogener når antibiotikabehandling er gitt før prøvetaking (personlig erfaring, AMM, St. Olavs Hospital). Andre årsaker til lave score-verdier kan være tilstedeværelse av mikroorganismer som kun er representert

med få stammer i databasen, samt tekniske problemer ved analysen, som f.eks. sedimentet på bunnen av Eppendorf-rør som bør være fullstendig tørket før overføring til MALDI-TOF plate (5).

PROBLEMOMRÅDE 2

Biosikkerhet

Blodkulturer og andre prøvematerialer som kan representere en mulig smittefare for laboratoriepersonell via aerosoldannelse, og bør håndteres i sikkerhetskabinett. Anbefalinger for smittevern ved arbeid med direkte identifikasjon fra blodkulturflasker er stort sett basert på de som er angitt ved arbeid med kolonier. Standardisert rør ekstraksjons metode (suspensjon av isolat i 70% etanol, etterfulgt med sentrifugering og resuspensjon av bakteriell pellet i 1:1 mikstur med 100% acetonitril og 70% mauresyre) er funnet effektivt for inaktivering av vegetative former av bakterier. Dessverre er komplett ekstraksjon tids- og arbeidskrevende i rutinearbeid. Tilpasninger i metoden til enklere ekstraksjon med kun 70% mauresyre på kolonier deponert på MALDI-TOF plate etterfulgt av dekning med α -cyano-4-hydroxycinnamic acid (HCCA) matrix har gitt like gode identifikasjonsresultater. Selve oppløsningen av matrix som lages i vannmikstur av acetonitril og trifluoracilsyre er funnet å være effektivt for å inaktivere bakterier i vegetative form, inkludert bioterror-agens (f.eks. *F. tularensis* og *B. melitensis*) (12). Men, den er mindre effektiv mot spore-dannende bakterier som f.eks. *Bacillus anthracis*. Ved laboratoriemistanke om *Bacillus anthracis*, dvs. mikroskopifunn av spore-dannende store, rette grampositive staver som er ubevegelige i våtpreparat fra blodkulturflasken, samt kliniske opplysninger som vekker mistanke (f.eks. rusmisbruk og høy feber), må inaktivering utføres i sikkerhetskabinett BSL3 og gjøres ved bruk av 80% trifluorouracil syre (13). Laboratorier som ikke har tilgang til BSL3 og har mistanke om mulig *B. anthracis* i blodkultur, bør ta kontakt med referanselaboratoriet for bioterroragens ved FHI for videre tiltak.

PROBLEMOMRÅDE 3

Beskrivelse av MALDI-TOF MS instrumenter, databaser og metoder for direkte identifikasjon fra positive blodkulturflasker

MALDI-TOF MS instrumenter

Det er to kommersielle MALDI-TOF MS systemer som brukes i Norge MALDI Biotyper® (Bruker Daltonics) og VITEK MS IVD (bioMérieux). Status fra spørreundersøkelsen i forkant av dette møtet viste at Bruker instrumenter per nå er valgt av 20/21 (95%) av laboratorier. Biotyper Microflex er dominerende modell i 17/20 av laboratoriene, hvor 70% har ett instrument, mens 3/20 (15%) har to MALDI-TOF MS. Modellen Biotyper sirius System finnes i 9/20 (45%) laboratorier. Ett laboratorium 1/20 (5%) har to instrumenter av denne modellen. Modeller som er representert i mindre grad i 3/20 (15% til sammen) er Smart, Biotyper Smart og Biotyper MBT Smart. MALDI Biotyper® sirius System presenteres av produsenten som en nyskapende modell, hvor negativt ion modus er introdusert ved siden av positivt ion modus, noe som åpner for spennende muligheter innen MALDI-TOF forskning.

MALDI-TOF MS databaser

Software system MBT Compass HT IVD er laget for å sikre enda bedre og raskere identifikasjon av mikroorganismer med MALDI Biotyper System. MBT Compass referansebibliotek er del av Compass MBT programvare og oppdateres kontinuerlig. De fleste laboratorier i Norge bruker siste database versjon, MBT Compass Library Revision K (2022) Maldi Biotyper DBUpdate_V12.0.0.0-11897(RUO), som inneholder 4274 species. I etterkant av spørreundersøkelsen, ny versjon av MBT Compass Library

Revisjon (2023) DBUpdate_V13.0.0.2-11897-12438(RUO), som inneholder 4320 species, var installert.

For diagnostikk av BSI anbefaler Bruker Daltonics installering av MBT Compass IVD Sepsityper Module som integrerer data fra Sepsityper arbeidsflyt inn i MBT Compass IVD software. Ved installering av Sepsityper Module kan en ny type av prøve (Sepsityper) velges for analysing på MALDI-TOF instrumentet, ved siden av Bacterial Test Standard (BTS - QC) og Standard (bakterie koloni). For Sepsityper typer prøvemateriale er nedre «mass range» grense som brukes for peaks samling satt til 4 kDa istedenfor 3 kDa som gjelder for BTS-QC og Standard. Den tilpasningen er gjort for å unngå multiple peaks som kommer fra erytrocytter, leukocyttter og celler fra humant proteom, mest i området mellom 3 og 4 kDa, og som interferer med analysing ved å gi tilleggs spektral-peaks som ikke finnes i database (14). Ved tolkning av resultater, kan derfor MBT IVD Sepsityper anvende en lavere score verdier enn Standard Biotyper for å angi sikker identifikasjon; på species-nivå (>1,8), genus nivå (>1,6) og for ingen sikker identifikasjon (<1,6). MBT Sepsityper IVD modul har mulighet til å gi indikasjon og identifikasjon av to agens i en polymikrobiell blodkultur (15). VITEK MS IVD (bioMérieux) bruker SARAMIS® database. Nyeste MALDI-TOF system VITEK MS PRIME bruker VITEK IVD 3.2 knowledge base som inneholder 1316 species inkludert mykobakterier, gjær- og muggsopp. Det er ulikt fra Maldi Biotyper databasen hvor det finnes programvare ekstensjoner (IVD og RUO) for mykobakteria og muggsopp. I tillegg, det er flere andre forskjeller mellom MALDI Biotyper® (Bruker Daltonics) og VITEK MS IVD (bioMérieux) som kan påvirke direkte identifikasjon fra blodkulturflasker, blant annet, at MALDI Biotyper sirius har opptil fem ganger raskere time-to-results (TTR) enn VITEK MS PRIME; TTR (Time to result)-prosess som begynner med innsetting av MALDI-TOF plate i instrumentet og avsluttes med analysing av siste spektrum profil) (16).

Metoder for direkte identifikasjon av mikroorganismer fra blodkulturflasker

For direkte identifikasjon kan kommersielle metoder brukes: Sepsityper research-use-only (RUO) blodkultur kit (Bruker Daltonics) eller Vitek MS RUO blodkultur kit (bioMérieux), samt flere *in-house* laboratorie-utviklede metoder.

Kommersielle metoder

Sepsityper RUO kit (Bruker Daltonics) og Vitek MS RUO kit (bioMérieux) bruker forskjellige teknikker for tilberedelse av bakterie-pellet.

1) Sepsityper prosedyren er basert på lysing av blodceller og flere trinn med sentrifugering, samt ekstraksjon av pellet (4). Ved Rapid Sepsityper metode, deponeres pellet på MALDI-TOF plate, dekkes med MALDI-TOF matrix og analyseres (7,17).

Sepsityper ekstraksjons protokoll

Ved original Sepsityper metode suspenderes pellet videre med 300 µl destillert vann, sentrifugeres og supernatant kastes før komplett ekstraksjon utføres. Så tilsettes 900 µl etanol, prøven sentrifugeres og supernatant kastes. Etanol-rester fjernes ved gjentatt sentrifugering. Til pellet tilsettes lik mengde mauresyre og acetonitrile, prøven sentrifugeres og 1µL supernatant overføres til MALDI-TOF plate, dekkes med MALDI-TOF matrix og analyseres (4,6).

Rapid Sepsityper hand-on-time prosess tar 10 minutter, mens original Sepsityper metode tar omtrent 25 minutter (Figure 1).

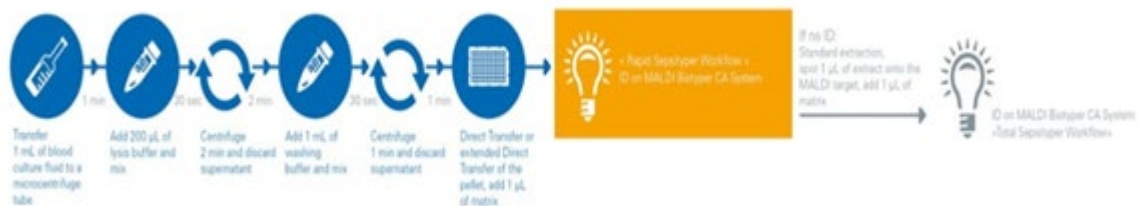


Figure 1: Sepsityper kit arbeidsflyt: bilde tatt fra www.bruker.com

2) VITEK MS RUO blodkultur kit baseres på rensing av pellet ved hjelp av vakuum filter (18). Blod lyseres med produsentens lysis buffer og lysat strømmes ved hjelp av vakuum instrumentet gjennom et filter. Når lysat er fullstendig trekt inn i filteret, skylles mikrobielle celler på filteret tre ganger med vaskebuffer og tre ganger med deionisert vann gjennom nok et filter. Bakteriell film som gjenstår på filteret skrapes bort med Micro-Swab applikator og settes opp på MALDI-TOF plate, dekkes med matrix (bioMérieux) og analyseres (Figur 2). En blodkultur kan kjøres i triplikat ved en testing og hand-on-time prosessen tar omtrent 20 minutter.

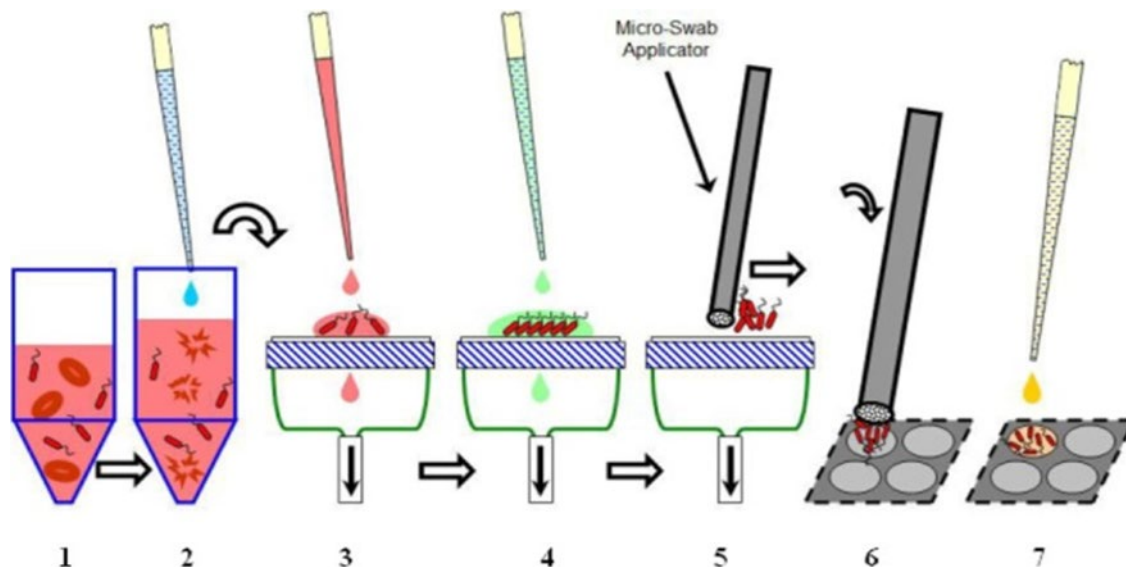


Figure 2. Oppsummering av forbehandlings prosedyre for VITEK MS. Bildet tatt fra Fothergill A et al, J Clin Microbiol 2013 (ref 18)

Begge kommersielle systemer er egnet for bruk på både MALDI Biotyper® (Bruker Daltonics) og VITEK MS IVD (bioMérieux).

In-house metoder

Generelt er disse basert på (i) lysing av blodceller og sentrifugering etterfulgt av (ii) tilsetning av vann/vaskemiddel, og (iii) et nytt sentrifugeringstrinn for å fjerne ikke-bakterielle proteiner fra mediet (Figure 3).

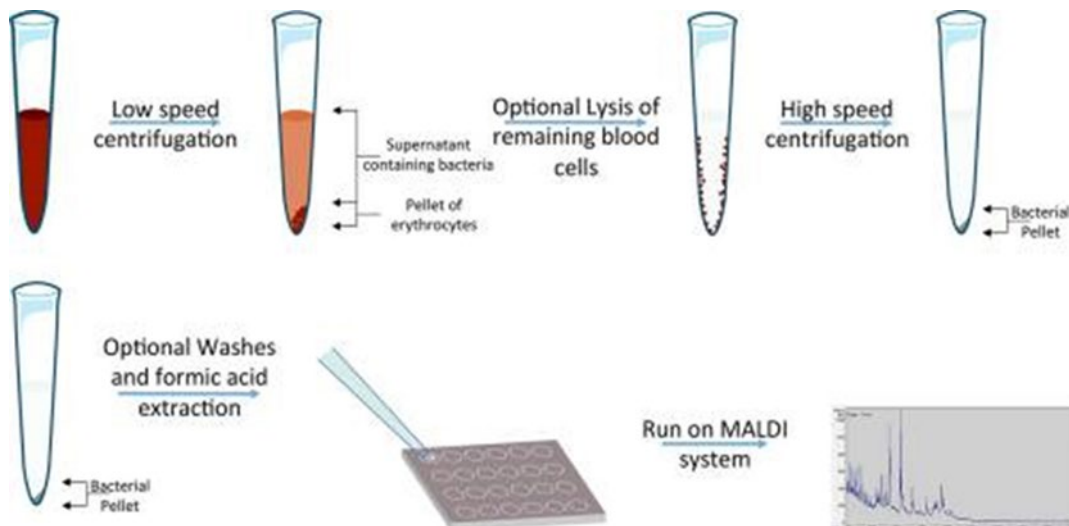


Figure 3. Grunnleggende forbehandlings prosedyre for direkte identifikasjon av mikroorganismer fra blodkulturflasker. Bildet tatt fra Faron ML et al, J Clin Microbiol, 2017 (ref 19)

In-house metodene bruker ulikt primært volum av blod fra positive blodkulturflasker, de fleste bruker 1 ml, men alt fra 1 til 6 ml er utprøvd (19). Laboratorieprosedyrer omfatter lysering med ulike reagenser som 5% saponin, ammonium-chloride, trifluoroacetyl acid (TFA), 10 x Triton og sterilt vann (5,6,8-10,19-22). Lysert prøvemateriale sentrifugeres for isolering av pellet, supernatant fjernes og tilsettes vann, etanol eller fysiologisk saltvann. Det sentrifugeres så på nytt og etter at supernatant er kastet ut, tørkes pelleten som gjenstår på bunnen av Eppendorf røret godt i romtemperatur før den settes opp på MALDI-TOF plate for identifikasjon. Flere studier har vist bedre identifikasjon dersom enkel ekstraksjon med 70% maursyre blir utført på materialet som deponeres på MALDI-TOF platen *før* MALDI-TOF matrix tilsettes (7,9,17,23). I noen *in-house* metoder brukes komplett ekstraksjonsprotokoll på pellet, lignende original Sepsityper metode (6,10,11,20-22).

En annen *in house* prosedyre bruker sentrifugering av blod i rør med separator gel (Clot activator og gel BD Vacutainer tubes [Becton Dickinson] eller Z Serum Sept Clot Activator [Greiner Bio One, Courtaboeuf, France]) for å separere bakteriell pellet og serum på overflaten av polymerisk gel, mens erythrocytter sedimenteres under laget med gel (11,24). Supernatant fjernes forsiktig for å unngå skade det tynne laget av bakterier som fins på overflaten av gelen. Bakteriellpellet suspenderes med 1,5 ml av sterilt vann og overføres til Eppendorf rør hvor pellet er klar til standard ekstraksjonsprotokoll med etanol, mauresyre og acetonitril etter to sentrifugeringstrinn og med påfølgende deponering av 1µl supernatant på Maldi-tof plate.

Direkte identifikasjon fra polymikrobielle blodkulturflasker

Forekomst av positive blodkulturer med funn av to eller flere agens varierer fra 2-10,4% i ulike studier (4-9). Ved testing av polymikrobielle blodkulturer med Sepsityper og *in-house* metoder og avlesning på MALDI-TOF MS Biotyper® med Standard Biotyper og på VITEK MS IVD, blir ett agens identifisert i 73,5-100 % tilfeller (4-9). Ved bruk av MBT IVD Sepsityper Modul, blir identifikasjon av to agens i samme flaske vellykket i 28,3- 34,3% tilfeller (7,15). Identifikasjon av begge agens i 5 av 21 polymikrobielle blodkulturer var vellykket i kun en studie som brukte avlesning med MALDI-TOF Standard Biotyper og vurdering av de 10 beste identifikasjonsforslag på en spot (6).

Valg mellom kommersielle Sepsityper og in-house metoder

Det siste tiåret har flere studier sammenliknet Sepsityper og ulike *in-house* metoder (6,8,20-22). Andelen identifiserte mikroorganismer var like høye, og pålitelighet av resultatene var like god for Sepsityper (60,7- 97,8%) og *in-house* metoder (65- 96,7%) (Tabell 1). Kun en studie (25) som

utelukkende analyserte direkte identifikasjon av anaerobe bakterier påviste en signifikant forskjell (i favør av *in-house* metoden): godkjent Sepsityper id til speciesnivå (56,3%) og *in-house* saponin id-basert metode (84,9%). Analysestiden angitt i studier varierer; for original Sepsityper metode 25-40 minutter og for *in-house* metoder varierende fra 10 – 100 minutter (Tabell 1). Det er nylig kommet studier som beskriver en «Rapid Sepsityper»- metode (7,17) som utføres på 10 minutter, med enkel ekstraksjon og med like pålitelige resultater som original Sepsityper utført med komplett ekstraksjon. Studier som har utført beregning av kostnadseffektivitet mellom Sepsityper (5,50 -8,90€; 7-15\$) og *in-house* metoder (0,40-0,72€; 0,50-1\$) har vist klare økonomiske fordeler ved bruk av *in-house* metoder (5,6,8,20,22). Validering av *in-house* metoder bør utføres før metoden benyttes i rutinediagnostikk og den baserer seg hovedsakelig på en vurdering av oppnådd samsvar mellom identifikasjoner fra direkte testing og fra kolonier. Andre faktorer som bør tas hensyn til er reproduserbarheten av metoden, hvor teknisk krevende den er, og hvor lett kan den implementeres i daglig arbeid, samt om det er stabil tilgang til reagenser som brukes til testingen.

PROBLEMOMRÅDE 4

Tolkning av Maldi-tof resultater I

Vurdering av resultater i forhold til score-verdier

Det finnes ingen standardisert anbefaling for tolkning av score-verdier ved direkte identifikasjon fra blodkulturer. De fleste studier utført på MALDI-TOF MS har brukt MALDI Biotyper standard avlesning, hvor sikker species-identifikasjon påvises med score >2,0, for genus med score <2,0 og >1,7, mens ingen identifikasjon har score <1,7 (20-22,24,26). Tolkning av resultater med score verdier <1,7 kan likevel gi pålitelige identifikasjoner samsvarende med endelig MALDI-TOF resultater fra kolonier: senkning av score-verdier til >1,5 eller >1,6 for sikkert genus og >1,7 eller >1,8 for sikkert species identifikasjon har generelt nesten ikke gitt feil identifikasjoner (Tabell 1), (4-11,17,25). Sannsynligheten for riktig identifikasjon er enda større hvis man inkluderer en konsistens-regel om at minst tre eller fire av de først foreslåtte identifikasjoner fra topp 10 forslag på ett spot viser samme species (4,11).

Produsenten av VITEK MS har ikke satt opp faste anbefalinger for tolkning av resultater og disse forventes til å bli etablert av selve brukeren. I studier som har brukt VITEK MS har dette gitt varierende konsistens tolkninger: fra >75% hvis ingen konflikt resultat i andre spot av samme prøve (18) til >90% for genus og >98% for species nivå hvis kun en spot analyseres (6,23). I en av de nyeste studier, utført fra bakteriekolonier, var konsistenssamsvar i området 60-99% alle tolket som et høyt konsistensnivå på species nivå. I tilfeller der to, tre eller fire species av samme genus har likt konsistenssamsvar, ble identifikasjon tolket kun på genus nivå, mens > fire ulike species med lik konsistens ble tolket som ingen identifikasjon (16). Ved bruk av kun IVD/CE databasen kan tolkningen likevel gjøres av VITEK MS systemet: Da angis det en % sannsynlighet for korrekt ID, og en fargekode som indikerer sikkerheten av funnet (personlig kommunikasjon med E. Nilsen, Molde sykehus). Sammenligning av resultater for bakterieidentifikasjoner utført ved hjelp av de nyeste MALDI-TOF MS systemer, dvs. MALDI-TOF MS sirius (Bruker Daltonics) og VITEK MS PRIME (bioMérieux) viste like høye identifikasjonsnivåer for systemene (98,9% vs. 97,9%, henholdsvis) (16).

PROBLEMOMRÅDE 5

Tolkning av Maldi-tof resultater II

Vurdering av resultater i forhold til foreslått identifikasjon

Høyere identifikasjonsrate er påvist i positive blodkulturflasker for Gram negative (87,2- 98,5%) sammenliknet med for Gram positive bakterier (52-92%) i de fleste av studier. (Tabell 1), Dette skyldes sannsynligvis strukturforskjeller i celleveggen som gir en større utfordring ved ekstraksjon av masse/protein hos Gram positive bakterier.

Ved høye score-verdier >2,0 er identifikasjon pålitelig på species-nivå, og det er ikke nødvendig å sette opp ny MALDI-TOF fra oppvekst på faste medier. I tilfeller der første og andre forslag av de 10 beste identifikasjonsforslag kommer med score >2,0, men hvor det samtidig angis ulike species av samme genus, kan identifikasjon på genus-nivå godkjennes. Ved score verdier >1,7 og hvor samme species er angitt med minst fire første forslag, kan identifikasjon på speciesnivå kan godkjennes, og det kan det vurderes om det er nødvendig å sette opp ny identifikasjon fra kolonier, f.eks. ved funn av en uvanlig patogen eller manglende fenotypisk samsvar. Ved score >1,7 og samtidig forslag om ulike species, men fortsatt samme genus, kan foreløpig identifikasjon gis ut på genusnivå, og ny MALDI-TOF gjøres fra kolonier. Score på >1,7 med samtidig funn av ulike genus er uvanlig, men kan forekomme f.eks. innen Enterobacterales (*Klebsiella spp/Citrobacter spp/Enterobacter spp* kombinasjon). Da kan foreløpig identifikasjon gis ut som Enterobacterales. I noen av disse tilfellene kan det være spørsmål om polymikrobiell blodkultur og dette bør undersøkes ved oppvekst på faste medier, særlig hvis mikroskopi ikke gav indikasjon på dette.

Det finnes generelt ingen betydelige forskjeller i tolkning av id-resultater oppnådd direkte fra positiv blodkulturflaske direkte sammenliknet med de som er oppnådd fra koloni. Men identifikasjonen av noen arter påvirkes mer enn andre når identifikasjon utføres direkte fra blodkulturflasker sammenliknet med identifikasjon fra koloni: eksempler er differensiering mellom *S. pyogenes* og *S.dysgalactiae*, og mellom *S. pneumoniae* og andre viridans streptokokker i *S. mitis-gruppen*. Tilleggster som kan utføres direkte fra blodkulturflasker, som agglutinasjons tester, kan være avklarende, men disse bør retestes fra kolonier. Utsåing fra blodkulturflasker til blodagarskål med optochin lapp hjelper til å skille mellom *S. pneumoniae* og andre streptokokker i *S. mitis-gruppen*.

Sikker identifikasjon av mikroorganismer som er vanskelig å skille ved identifikasjon fra kolonier og som krever tilleggster blir like krevende ved direkte testing fra blodkulturflasker. Eksempler er *N. meningitidis* (skilles ikke sikkert fra *apatoogene Neisseria spp*), *Listeria monocytogenes* (har spektral profil som ligner mye til *L. innocua*, *L. ivanovii* og andre), og ved påvisning av disse ved direkte identifikasjon, også ved høye score verdi >2,0, bør tilleggster som PCR direkte fra blodkulturflaske og fenotypiske tester fra kolonier utføres for endelig identifikasjon.

Ved god teknisk utførelse av *in-house* eller Sepsityper metoder kan pålitelig identifikasjon med høye score verdier >2,0 forventes for *S. aureus*, Enterobacterales, *Pseudomonas spp*, *Acinetobacter spp*, *Haemophilus influenzae*, *Enterococcus spp*, *Bacteroides spp*, *Clostridium spp*, *Lactobacillus spp*, *Bifidobacterium spp*, *Capnocytophaga spp* (inkludert *C. canimorsus*), *Listeria spp*, *Bacillus cereus gruppen*, *Stenotrophomonas maltophilia*, etc. Score-verdier <2,0, men id fortsatt i godt samsvar med endelig identifikasjon, er observert ved funn av blant annet av *Aerococcus spp*, *Prevotella spp*, *Fusobacterium spp*, *Fingoldia magna*, *Actinotignum spp*, *Francisella tularensis*, og kan muligens forklares med lavere konsentrasjon av mikroorganismer ved utløsning av positivt signal. Generelt sett, ved score-verdier som er 1,4 eller mindre anbefales forsiktighet ved tolkning (f.eks. ved score= <1,4 *Lactobacillus spp* kan være feidentifikasjon til tross for flere forslag om samme genus). Mikroorganismer som representerer kontaminasjon med hudflora (koagulase-negative stafylokokker, *Cutibacterium spp*, *Micrococcus spp*, *Corynebacterium spp*) og vokser kun i 1 av flere blodkulturflasker, gir i de fleste av tilfeller lavere score verdier - <1,7, eller ingen pålitelig identifikasjon (score <1,4), på grunn av lave bakteriekonsentrasjoner.

Vedlegg: Tabell 1

REFERANSER

1. Waagsbø, B., Stuve, N., Afset, J. E., Klepstad, P., Mo, S., Heggelund, L., & Damås, J. K. (2022). High levels of discordant antimicrobial therapy in hospital-acquired bloodstream infections is associated with increased mortality in an intensive care, low antimicrobial resistance setting. *Infectious Diseases*, 54(10), 738–747.
2. Martiny D, Debaugnies F, Gateff D, Gérard M, Aoun M, Martin C et al. Impact of rapid microbial identification directly from positive blood cultures using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry on patient management. *Clin Microbiol Infect*. 2013 Dec;19(12): E568-81. doi: 10.1111/1469-0691.12282. Epub 2013 Jul 27. PMID: 23890423.
3. Caméléna F, Péan de Ponfily G, Pailhoriès H, Bonzon L, Alanio A, Poncin T et al. Multicenter Evaluation of the FilmArray Blood Culture Identification 2 Panel for Pathogen Detection in Bloodstream Infections. *Microbiol Spectr*. 2023 Feb 14;11(1): e0254722.
4. Schubert S, Weinert K, Wagner C, Gunzl B, Wieser A, Maier T, Kostrzewa M. Novel, improved sample preparation for rapid, direct identification from positive blood cultures using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry. *J Mol Diagn*. 2011 Nov;13(6):701-6. doi: 10.1016/j.jmoldx.2011.07.004. Epub 2011 Sep 1. PMID: 21889611; PMCID: PMC3194056.
5. Simon L, Ughetto E, Gaudart A, Degand N, Lotte R, Ruimy R 2019. Direct Identification of 80 Percent of Bacteria from Blood Culture Bottles by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry Using a 10-Minute Extraction Protocol. *J Clin Microbiol* 57:10.1128/jcm.01278-18. <https://doi.org/10.1128/jcm.01278-18>
6. Chen JH, Ho PL, Kwan GS, She KK, Siu GK, Cheng VC, Yuen KY, Yam WC. Direct bacterial identification in positive blood cultures by use of two commercial matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry systems. *J Clin Microbiol*. 2013 Jun;51(6):1733-9. doi: 10.1128/JCM.03259-12. Epub 2013 Mar 20. PMID: 23515548; PMCID: PMC3716069.
7. Cordovana M, Zignoli A and Ambretti S. Rapid Sepsityper in clinical routine: 2 years' successful experience. *Journal of Medical Microbiology* 2020;69:1398–1404 DOI 10.1099/jmm.0.001268
8. Martiny, D., Dediste, A. & Vandenberg, O. Comparison of an in-house method and the commercial Sepsityper™ kit for bacterial identification directly from positive blood culture broths by matrix-assisted laser desorption-ionisation time-of-flight mass spectrometry. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **31**, 2269–2281 (2012). <https://doi.org/10.1007/s10096-012-1566-1>
9. Jakovljević A, Bergh K. Development of a rapid and simplified protocol for direct bacterial identification from positive blood cultures by using matrix assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *BMC Microbiol*. 2015 Nov 6; 15:258. doi:10.1186/s12866-015-0594-2. PMID: 26546000; PMCID: PMC4636780.
10. Christner M, Rohde H, Wolters M, Sobottka I, Wegscheider K, Aepfelbacher M. Rapid identification of bacteria from positive blood culture bottles by use of matrix-assisted laser desorption-ionization time of flight mass spectrometry fingerprinting. *J Clin Microbiol*. 2010 May;48(5):1584-91. doi: 10.1128/JCM.01831-09. Epub 2010 Mar 17. PMID: 20237093; PMCID: PMC2863888.
11. W. Moussaoui, B. Jaulhac, A.-M. Hoffmann, B. Ludes, M. Kostrzewa, P. Riegel, G. Prévost, Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry identifies 90% of bacteria directly from blood culture vials, *Clin Microbiol Inf*, Volume 16, Issue 11, 2010, Pages 1631-1638, ISSN 1198-743X, <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03356.x>.
12. Cunningham SA, Patel R. Standard Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry Reagents May Inactivate Potentially Hazardous Bacteria. *J Clin Microbiol*. 2015 Aug;53(8):2788-9. doi: 10.1128/JCM.00957-15. Epub 2015 May 27. PMID: 26019211; PMCID: PMC4508459.

13. Peter Lasch, Herbert Nattermann, Marcel Erhard, Maren Stammle, Roland Grunow, Norbert Bannert, Bernd Appel, Dieter Naumann. MALDI-TOF Mass Spectrometry Compatible Inactivation Method for Highly Pathogenic Microbial Cells and Spores. *Anal. Chem.* 2008, 80, 6, 2026–2034 Publication Date: February 22, 2008 <https://doi.org/10.1021/ac701822j>
14. MBT Compass IVD Sepsityper Module User Manual. Revision F (May 2021)
15. Scohy, A., Noël, A., Boeras, A. *et al.* Evaluation of the Bruker® MBT Sepsityper IVD module for the identification of polymicrobial blood cultures with MALDI-TOF MS. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **37**, 2145–2152 (2018). <https://doi.org/10.1007/s10096-018-3351-2>
16. Thelen P, Graeber S, Schmidt E, Hamprecht A. A side-by-side comparison of the new VITEK MS PRIME and the MALDI Biotyper sirius in the clinical microbiology laboratory. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2023 Nov;42(11):1355-1363. doi: 10.1007/s10096-023-04666-x. Epub 2023 Oct 5. PMID: 37794128; PMCID: PMC10587274.
17. Ponderand L, Pavese P, Maubon D, Giraudon E, Girard T, Landelle C, Maurin M, Caspar Y. Evaluation of Rapid Sepsityper® protocol and specific MBT-Sepsityper module (Bruker Daltonics) for the rapid diagnosis of bacteremia and fungemia by MALDI-TOF-MS. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2020 Dec 9;19(1):60. doi: 10.1186/s12941-020-00403-w. PMID: 33298064; PMCID: PMC7727196
18. Fothergill A, Kasinathan V, Hyman J, Walsh J, Drake T, Wang YF. Rapid identification of bacteria and yeasts from positive-blood-culture bottles by using a lysis-filtration method and matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrum analysis with the SARAMIS database. *J Clin Microbiol*. 2013 Mar;51(3):805-9. doi: 10.1128/JCM.02326-12. Epub 2012 Dec 19. PMID: 23254131; PMCID: PMC3592086.
19. Faron ML, Buchan BW, Ledebor NA. Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry for Use with Positive Blood Cultures: Methodology, Performance, and Optimization. *J Clin Microbiol*. 2017 Dec;55 (12):3328-3338. doi: 10.1128/JCM.00868-17. Epub 2017 Aug 30. PMID: 28855303; PMCID: PMC5703799.
20. Yonetani S, Ohnishi H, Ohkusu K, Matsumoto T, Watanabe T. Direct identification of microorganisms from positive blood cultures by MALDI-TOF MS using an in-house saponin method. *Int J Infect Dis* 2016. Nov; Vol 52; Pages 37-42. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2016.09.014>
21. Saffert RT, Cunningham SA, Mandrekar J, Patel R. Comparison of three preparatory methods for detection of bacteremia by MALDI-TOF mass spectrometry. *Diag Microbiol Infect Dis*. 2012, Vol 73; 21-26
22. Gaudio FD, Indelicato S, Indelicato S, Tricoli MR, Stampone G, Bongiorno D. Improvement of a rapid direct blood culture microbial identification protocol using MALDI-TOF MS and performance comparison with Sepsityper kit. *J Microbiol Methods*. Volume 155, 2018, Pages 1-7, ISSN 0167-7012, <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2018.10.015>.
23. Forster J, Kohlmorgen B, Haas J, Weis P, Breunig L, Turnwald D, Mizaikoff B, Schoen C. A streamlined method for the fast and cost-effective detection of bacterial pathogens from positive blood cultures for the BacT/ALERT blood culture system using the Vitek MS mass spectrometer. *PLoS One*. 2022 Apr 28;17(4):e0267669. doi: 10.1371/journal.pone.0267669. PMID: 35482712; PMCID: PMC9049335.
24. Stevenson LG, Drake SK, Murray PR. Rapid identification of bacteria in positive blood culture broths by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol*. 2010 Feb;48(2):444-7. doi: 10.1128/JCM.01541-09. Epub 2009 Dec 2. PMID: 19955282; PMCID: PMC2815598.
25. Jeverica S, Nagy E, Mueller-Premru M, Papst L. Sample preparation method influences direct identification of anaerobic bacteria from positive blood culture bottles using MALDI-TOF MS, *Anaerobe*, Volume 54, 2018, Pages 231-235, ISSN 1075-9964, <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2018.05.003>
26. Lagacé-Wiens PR, Adam HJ, Karlowsky JA, Nichol KA, Pang PF, Guenther J, Webb AA, Miller C,

Alfa MJ. Identification of blood culture isolates directly from positive blood cultures by use of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry and a commercial extraction system: analysis of performance, cost, and turnaround time. J Clin Microbiol. 2012 Oct;50 (10):3324-8. doi: 10.1128/JCM.01479-12. Epub 2012 Aug 8. PMID: 22875888; PMCID: PMC3457416.

Vedlegg: Tabell 1

Referanse	Metode	Sensitivitet (%)	Estimert tid til utførelse (hand-on-time)
Kommersielle metoder			
Schubert et al, 2011	Sepsityper kit on Biotyper (Bruker, Daltonics)	species: 60,7 sc >1,7 86,5 sc >1,5 (≥3 identiske ID)	Sepsityper: 25 min
Chen et al, 2013 min med	Sepsityper kit on Microflex LT Biotyper (Bruker Daltonics) vs. Vitek MS IVD (bioMérieux) (n= 181 monomikrobielle blodkulturer)	genus: 97,8 sc >1,6 genus: 92,9 konsistens samsvar >90%	Sepsityper: 30
Fothergill et al, 2013 min	Vitek MS RUO system on Vitek MS (BioMérieux) lysing/filtrerings metode	species: 73% confidence match >75%	Vitek MS: 15
Lagacé-Wiens et al, 2012	Sepsityper kit on Biotyper (Bruker Daltonics)	species: 83,6 sc >1,7	Sepsityper: 30 min
Cordovana et al, 2020	Rapid Sepsityper kit on Biotyper (Bruker Daltonics) med enkelt ekstraksjon (mauresyre)	species: 86,3 sc >1,6 (av disse, 93,3% sc >1,8)	Rapid Sepsityper: 10 min
Kommersielle metoder/ vs. in-house metoder			
Chen et al, 2013 min	Sepsityper kit vs. in-house saponin lysis + protein ekstraksjon Vitek MS IVD vs. in-house saponin lysis + protein ekstraksjon (n=92 monomikrobielle blodkulturer)	genus: 93,5 vs. 96,7 (total) Gram neg: 94,1 vs 98,5 Gram pos: 92 vs. 92 genus: 88 vs. 88 (total) Gram neg: 92,5 vs. 92,6 Gram pos: 76 vs. 76	Sepsityper: 30 In-house: 30 min
Martiny et al, 2012	Sepsityper kit vs. In-house saponin lysis	genus: 71,2 sc >1,7; 78 sc >1,4 genus: 72,9 sc >1,7; 86,4 sc >1,4	Sepsityper: 40 min In-house: 20 min
Yonetani et al, 2016 min	Sepsityper kit vs. in-house saponin lysis vs. in-house sentrifugerings metode (+ protein ekstraksjon for alle metoder)	genus: 78,5 sc >1,7 genus: 76,4 sc >1,7 genus: 68,7 sc >1,7	Sepsityper: 30 In-house: 30 min In-house: 50 min
Saffert et al, 2012 min	Sepsityper kit vs. in-house SDS- lysis metode vs. in-house sentrifugerings metode (+ protein ekstraksjon for alle metoder)	genus: 76 sc >1,7; 83 sc >1,5 genus: 76 sc >1,7; 86 sc >1,5 genus: 65 sc >1,7; 68 sc >1,5	Sepsityper: 30 SDS-lysis: 30 min sentrifug: 30 min
Ponderand et al, 2020	Sepsityper kit standard vs. Rapid Sepsityper med enkelt ekstraksjon vs. Rapid Sepsityper uten ekstraksjon	species: 74,6 sc >1,6 species: 71,4 sc >1,6 species: 64,3 sc >1,6	Sepsityper: 30 min Rapid I :10 min Rapid II :10 min

Del 2 - Innleggene/Bakgrunnsinformasjon

<u>Jeverica et al, 2018</u>	<u>Sepsityper kit vs. in-house saponin metode</u> (kun direkte id av anaerobe bakterier)	species: 56,3 vs. 84,9 <u>sc</u> >1,6 Gram <u>neg</u> : 46,5 vs. 100 Gram pos: 70,8 vs. 62,5	<u>Sepsityper</u> : 30 min <u>In-house</u> : 20 min
<u>Gaudio et al, 2018</u> min	<u>Sepsityper kit vs. in-house SELTERS metode</u> (Triton X-100 + 0,1% SDS <u>lysis</u> + protein ekstraksjon)	genus: 87,1 <u>vs</u> 86,2 <u>sc</u> >1,7 Gram <u>neg</u> : 90,1 vs. 87,6 Gram pos: 84,6 vs. 82,8 genus: 86,4% (<u>total</u>)	<u>Sepsityper</u> : 20 min <u>In-house</u> : 45 In-house II: 10
min	(Triton X-100 + 1,8% SDS <u>lysis</u>)		
<i>In-house metode: sentrifugering i rør med separator gel</i>			
<u>Moussaoui et al, 2010</u>	gel Vacutainer tube (BD Dickinson) og <u>Vacurette</u> ® Z Serum Sep Clot Activator tube (Greiner Bio-One) + protein ekstraksjon	species: 89,6 <u>(>=4 identiske ID med score>1,4)</u>	In-house: 45 min
<u>Stevensen et al, 2010</u> min	<u>Vacurette</u> Z serum separator rør med <u>clot activator</u> (Greiner Bio-One) + <u>lysis</u> reagens NH ₄ Cl + protein ekstraksjon	19,8% <u>sc</u> <1,7 (av 212 pos <u>blk</u>) 170 <u>blk</u> <u>sc</u> > 1,7 med samsvar med endelig ID	In-house: 50
95%			
<i>In-house metode: sentrifugering + <u>lysis</u> reagens</i>			
Simon et al, 2019	In-house: Triton X-100 <u>lysis</u>	species: 80,5 <u>sc</u> >1,5 Gram <u>neg</u> : 90,5 Gram pos: 75,6	In-house: 10 min
Forster et al, 2022	In-house <u>lysis</u> /sentrifugering (VITEK MS) i <u>Eppendorf</u> rør med enkelt ekstraksjon (mauresyre)	species: 74,4 konsistens samsvar >= 99% Gram <u>neg</u> : 91,4 Gram pos: 65,9	in-house: 15 min
<u>Christner et al, 2010</u> min	In-house: sentrifugering (flere trinn) + <u>lysis</u> (destilert vann) + protein ekstraksjon	277 av 304 pos <u>blk</u> med 95% samsvar med endelig ID (alle <u>sc</u> verdier 15 <u>blk</u> med feil ID har <u>sc</u> : 1,26 til 1,42)	In-house: <u>ca</u> 100
vurdert,			
Jakovljevic og Bergh, 2015	In-house: saponin <u>lysis</u> med enkelt ekstraksjon (mauresyre)	species: 81,9 <u>sc</u> >1,7; 89,3 <u>sc</u> >1,5 Gram <u>neg</u> : 91 <u>sc</u> >1,7; 94 <u>sc</u> >1,5 Gram pos: 74,4 <u>sc</u> >1,7; 85,4 <u>sc</u> >1,5	In-house: 25 min*

*Etter innføring av nye Lytic Anaerobic blodkulturflasker som inneholder saponin, utelates det trinn med tilsettelse av 5% saponin (etter internt validering). Metoden er på den måte forkortet til ca. 15 minutter. Det tilsettes fortsatt saponin ved arbeid med aerobe positive blodkulturflasker.

Sammendrag 07 Aerobe fakultative bakterier

Identifikasjon av aerobe og fakultative bakterier

- presisjon av identifikasjon, behov for supplerende fenotypisk testing og rapportering av svar

Forfatter: Aasmund Fostervold, overlege, mikrobiologisk avdeling, Stavanger Universitetssjukehus

FORSLAG TIL ANBEFALINGER (RØD SKRIFT = TIL DISKUSJON KONTROVERSIELLE)

ANBEFALING 1 – IDENTIFIKASJON AV *ESCHERICHIA COLI*/*E. FERGUSONII*/*SHIGELLA*

Differensiering mellom *E. coli*, *diarefremkallende E. coli* og *Shigella spp.* hos stammer isolert fra fokus utenfor GI-traktus er bare nødvendig når det er klinisk mistanke om at stammen har sammenheng med gastrointestinal infeksjon. I andre kliniske sammenhenger kan funnet rapporteres som *E. coli* uten ytterligere testing. Identifisering av *E. fergusonii* ansees ikke nødvendig. Fenotypisk differensiering av *Shigella*/EIEC: Tre-rørs forgjæring [11] og/eller kommersielt identifikasjonssystem (F.eks. API20E, Vitek2) kombinert med *Shigella*-antiser. Misidentifikasjon med fenotypiske metoder forekommer. Derfor anbefales molekylære metoder (f.eks. ipaH-gen PCR) for endelig avklaring.

ANBEFALING 2 – IDENTIFIKASJON AV *SALMONELLA SPECIES*

Anbefalt metode for serotyping er et utvalg av antisera som kan identifisere tyfoid feber variantene samt de vanligste non-tyfoid variantene. Kan kombineres med kommersiell fenotypisk identifikasjon eller utvidet 3-rørs forgjæring, særlig dersom en ikke har antisera tilgjengelig lokalt.

ANBEFALING 3 – IDENTIFIKASJON AV *YERSINIA SPECIES*

- i. *Y. enterocolitica*: Anbefalt fenotypisk metode for serotyping er et utvalg av antisera som kan identifisere O:3 og O:9. Stammer med sikker eller uklar patogenisitet sendes FHI.
- ii. *Y. pseudotuberculosis*: Ingen serotyping lokalt, stammen sendes FHI for karakterisering.
- iii. *Differensiering av Y. pseudotuberculosis og Y. pestis*: Vurder journal og kliniske opplysninger. Kontakt kliniker for å bekrefte eller avkrefte mistanke om pest. Dersom pest ikke kan utelukkes kontakt FHI. Videre håndtering av stammen i henhold til lokale prosedyrer.

ANBEFALING 4 – IDENTIFIKASJON AV *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

Ingen fenotypisk differensiering innen *Klebsiella species*- kompleks (KpSC) er nødvendig. Dersom ønskelig kan svar rapporteres som *K. pneumoniae species* kompleks dersom beste score er *K. pneumoniae* eller annen art i KpSC.

ANBEFALING 5 – IDENTIFIKASJON AV *KLEBSIELLA OXYTOCA*/*K. INDICAE*/*RAOULTTELLA*

Ingen fenotypisk differensiering innenfor KoSC nødvendig. Dersom ønskelig kan svar rapporteres som *K. oxytoca species* kompleks dersom beste score er *K. oxytoca* eller annen art i KoSC. Differensiering av KoSC/*Raoultella species*: Ved klinisk viktige isolater og/eller resistens mot 3. generasjons cephalosporiner, suppler med fenotypisk identifikasjon (VITEK2 el lign.) og vurder resultat av enkelttester, evt. suppler med vurdering av id-score. Evt. kommenter forbehold om artsidentifikasjon i svaret.

ANBEFALING 6 – IDENTIFIKASJON AV *ENTEROBACTER CLOACAE*

Ingen fenotypisk differensiering innenfor *Enterobacter cloacae*-kompleks (EcC) er nødvendig. Dersom ønskelig kan svar rapporteres som *EcC* dersom beste score tilhører art innenfor EcC

ANBEFALING 7 – IDENTIFIKASJON AV *SERRATIA SPP.*

Ingen fenotypisk differensiering innenfor *Serratia marcescens* kompleks (SmC) eller *Serratia liquefaciens* -kompleks (SIC) er nødvendig. Dersom ønskelig kan svar rapporteres som *SmC* eller *SIC* dersom beste score tilhører art innenfor det respektive kompleks.

ANBEFALING 8 – IDENTIFIKASJON AV *AEROMONAS*

Ingen fenotypisk differensiering tilgjengelig. Besvares som *Aeromonas sp.*

ANBEFALING 9 – IDENTIFIKASJON AV *NEISSERIA*

Identifikasjon av *N. gonorrhoeae* aksepteres som hovedregel etter produsents kriterier. Fenotypisk identifikasjon er som hovedregel ikke nødvendig. Mange tilfeller vil uansett ha molekylært påvist *N. gonorrhoeae* i prøve fra samme lokalisasjon. Gitt kliniske og sosiale konsekvenser av et funn, bør det være lav terskel for supplerende testing med molekylær metode, dersom dette ikke allerede er utført. Dette gjelder særlig ved funn i luftveiene.

Identifikasjon av **N. meningitidis** kan aksepteres etter produsents kriterier som foreløpig identifikasjon, særlig ved alvorlig klinikk og/eller isolat fra sterilt område (f.eks. blod og cerebrospinalvæske). Vurder kliniske opplysninger og kontakt evt. rekvirent for ytterligere avklaring av klinisk mistanke. Vurder 16S rRNA eller målrettet PCR ved behov for rask avklaring. Serogruppering bør gjøres som standard for å skille A,C,Y og W fra B, og andre sergrupper/ikke typbare stammer.

Ved funn i genitalia vurder mulighet for uretrittassosiert N. meningitidis. Suppler med molekylær testing (f.eks. 16S rRNA eller målrettet PCR). Ved funn i andre lokalisasjoner suppler med kommersiell fenotypisk test (f.eks. API-NH) dersom funnet kan ha klinisk relevans.

MALDI-TOF MS identifisering av **andre Neisseria spp** kan aksepteres etter produsents kriterier. Ved alvorlig klinikk og/eller isolat fra sterilt område (f.eks. blod og cerebrospinalvæske) vurder å supplere identifikasjon med molekylær identifikasjon (f.eks. 16S rRNA eller målrettet PCR).

ANBEFALING 10 –IDENTIFIKASJON AV STREPTOCOCCUS DYSGALACTIAE/S.CANIS

Alle isolater Lancefield-agglutineres. Lancefield-gruppe C rapporteres som S. dysgalactiae uten subspecies. Ved Lancefield gruppe G og behov for ytterligere differensiering utføres CAMP-test.

ANBEFALING 11 –IDENTIFIKASJON AV STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE OG ANDRE VIRIDANSSTREPTOKOKKER

Generelt kan Maldi-TOF identifikasjon av **viridansstreptokokker** om ønskelig rapporteres på gruppenivå dersom beste score tilhører art innenfor den respektive gruppen. Maldi-TOF MS identifikasjon av **andre non-hemolytiske streptokokker** kan aksepteres etter produsentens kriterier.

S. pneumoniae kan primært identifiseres etter produsentens kriterier. Supplerende identifikasjon gjøres med klassisk morfologi (hvis til stede) og optochin-følsomhet og er særlig aktuelt ved klinisk viktige isolat og/eller der det utføres resistensbestemmelse. Ytterligere fenotypisk identifikasjon kan gjøres med galleoppløselighetstest ved trang optochin-sone eller utypisk kolonimorfologi og/eller resistensmønster – særlig aktuelt for isolat direkte fra luftveisprøver.

ANBEFALING 12 –IDENTIFIKASJON AV BACILLUS CEREUS/ANTHRAXIS

Bacillus anthracis kan ekskluderes ved påvist motilitet og beta-hemolyse, dersom dette utføres korrekt. **Vurder journal og kliniske opplysninger. Kontakt kliniker for å bekrefte eller avkrefte mistanke om anthrax. Dersom anthrax ikke kan utelukkes kontakt FHI.** For andre arter i BcG kan disse om ønskelig rapporteres som *Bacillus cereus* dersom beste score er *B. cereus* eller annen art i BcG

PROBLEMSTILLING OG AVGRENSNING:

Opgitt tema er «Behov for supplerende identifikasjon der MALDI-TOF MS» har kjente begrensninger. Sikker identifikasjon av mikrober i medisinsk mikrobiologisk laboratorium har flere formål. Jeg tar her utgangspunkt i behov knyttet til;

1. Diagnostisering av infeksjon:

Her skal man i første rekke skille mellom arter av ulik patogenitet (f.eks. *Neisseria meningitidis* og *Neisseria cinerea*), mens det i noen tilfeller også er nødvendig å kunne bekrefte at det er samme art som er funnet i to ulike prøver, f.eks. ved funn av alfa-hemolytiske streptokokker og mistanke om endokarditt, eller ved kontroll for persisterende bakteriemi.

2. Resistensbestemmelse og valg av antibiotikabehandling:

Brytningspunkter for resistensbestemmelse er arts og/eller gruppespesifikke. Enkelte arter kan også iboende resistensmekanismer som kan påvirke tolkning av resistensbestemmelsen og valg av antibiotikabehandling.

Utvalget av problemområder og inkludering av ulike arter er gjort med tanke på forekomst og klinisk betydning. Jeg har valgt å legge til anbefaling om hvordan svar skal rapporteres.

Leverandørene av MALDI-TOF MS oppdaterer sin programvareportefølje og databaser hyppig, slik at vitenskapelige publikasjoner kan henge etter, med tanke på hva som er reelt presisjonsnivå for den aktuelle kombinasjonen av programvare og database det enkelte laboratoriet har installert. Det finnes

også en rekke publikasjoner som viser at man ved å modifisere de kommersielle bibliotekene kan oppnå vesentlig bedre presisjon. Når og om dette implementeres av produsentene er vanskelig å ha oversikt over. Forhåpentligvis gir databaseforbedringer og introduksjonen av IVD-godkjente system stadig bedre presisjon, selv om det finne eksempler på det motsatte. [1]

På grunn av den kontinuerlige utviklingen på feltet er utvalget av bakterier og anbefalingene for supplerende tester ment som et forslag og ikke nødvendigvis en anbefaling om at supplerende testing må utføres. Mange av «problem-mikrobene» tilhører «kompleks» eller «grupper» bestående av nært beslektede arter, hvor mange av artene p.t ikke finnes ikke MS-databasene.

Jeg har prøvd å fokusere på differensiering som er klinisk relevant med et øye for at rapporteringen blir mest mulig konsistent fra prøve til prøve. I en del tilfeller er det nok mulig å identifisere enkelt arter i en gruppe eller et kompleks, men det krever normalt veldig god id-score. For å unngå å måtte gjøre gjentatte identifikasjonsforsøk, eller noen ganger svare ut med art og andre ganger med gruppe eller kompleks har jeg generelt valgt å foreslå rapportering som gruppe eller kompleks der det er hensiktsmessig.

PROBLEMOMRÅDER – VED BRUK AV MALDI-TOF MED BEHOV FOR SUPPLERENDE FENOTYPISKE ID-TESTER. RAPPORTERING FOR VISSE VANLIGE/VIKTIGE AEROBER OG FAKULTATIVE ANAEROBER

Escherichia coli/ *E. fergusonii*/ *Shigella*

E. coli og *Shigella* spp. tilhører utfra fylogenetiske analyser samme art, hvor *Shigella* representerer en distinkt patotype som forårsaker diare. Det finnes imidlertid også en rekke diarefremkallende *E. coli* patotyper som kan gi lignende klinisk bilde. [2] Korrekt identifikasjon av *Shigella* spp. og diarefremkallende varianter av *E. coli* er viktig for valg av behandling og eventuelle smitteverntiltak. [3] Fenotypiske metoder er ikke egnet til å identifisere andre diarefremkallende *E. coli* enn *Shigella* og Enteroinvasiv *E. coli* (EIEC).

Shigella og EIEC har som fellestrekk at de er «inaktive», dvs. laktose-negative, gass-negative, non-motile og non-hemolytiske, men dette kan også forekomme hos andre *E. coli*. [4] Positive tester er å anse som «rule out» med hensyn til *Shigella* spp., mens enkelte EIEC-stammer kan ha en eller flere av de nevnte testene positive. Algoritme baserte kommersielle identifikasjonssystem som (API20E, Vitek2, Phoenix) kan derfor feilaktig bekrefte *Shigella* spp. (inaktiv *E. coli*) og avkrefte EIEC.

Ved utvidet fenotypisk testing (f.eks. «tre rør» [5]) er positiv Lysin decarboxylase (LDC) test rapportert å kunne ekskludere både *Shigella* spp. og EIEC. Fenotypisk differensiering mellom *Shigella* spp. og EIEC vanskelig uten bruk av molekylære metoder. [6] Renkultur av mistenkte isolater sendes referanselaboratoriet ved FHI. [7]

E. fergusonii er beskrevet som årsak til infeksjon hos mennesker (urinveisinfeksjon, bakteriemi, diare mm.) men klinisk betydning og forekomsten er sparsomt kartlagt. [4] Arten har et distinkt metabolsk mønster og kan identifiseres av kommersielle identifikasjonssystem som har arten inkludert, selv om det må bemerkes at få isolat har vært inkludert i aktuelle publikasjoner. [8]

Med hensyn til prevalens av diarefremkallende *E. coli* og *Shigella* spp. utenfor urinveiene sekvenserte Gladstone et. al. 3255 norske blodkulturisolat fra perioden 2002-2017, fenotypisk identifisert som *E. coli*. [9] I dette materialet ble det ikke funnet *Shigella* spp. eller andre *Escherichia* spp. Det ble funnet to shigatoxin-produserende *E. coli* isolat med utgangspunkt i urinveiene, hybrider mellom urinveispatogen *E. coli* og enterohemorragisk *E. coli*. [10] Differensiering er sannsynligvis ikke nødvendig for stammer isolert utenfor GI-traktus, men mindre det klinisk dreier seg om gastrointestinal infeksjon. [4, 11]

Forslag til anbefaling: Differensiering mellom *E. coli*, diarefremkallende *E. coli* og *Shigella* spp. hos stammer isolert fra fokus utenfor GI-traktus er bare nødvendig når det er klinisk mistanke om at stammen har sammenheng med gastrointestinal infeksjon. I andre kliniske sammenhenger kan funnet rapporteres som *E. coli* uten ytterligere testing. Identifisering av *E. fergusonii* ansees ikke nødvendig. Fenotypisk differensiering av *Shigella*/EIEC: Utvidet tre-rørs forgjæring og/eller kommersielt identifikasjonssystem (f.eks. API20E, Vitek2) kombinert med *Shigella*-antisera. Misidentifikasjon med fenotypiske metoder forekommer. Derfor anbefales molekylære metoder (f.eks. ipaH-gen PCR) for endelig avklaring. Renkultur av mulige *Shigella* /EIEC isolater sendes referanselaboratoriet ved FHI for karakterisering.

Salmonella species

Klinisk er det viktig å kunne identifisere serovarianter av *Salmonella enterica* subspecies *enterica* assosiert med tyfoid feber da disse er assosiert med et alvorligere, og ofte invasivt forløp (*Salmonella* Typhi og *Salmonella* Paratyphi). Forekomsten av disse Norge er 10-20 tilfeller per år, i all hovedsak knyttet til utenlandssmitte (MSIS). Renkultur av alle *Salmonella* spp. isolater sendes referanselaboratoriet ved FHI for karakterisering. [7]

Tyfoid *Salmonella* kan mistenkes på bakgrunn av biokjemiske testsystem med bør suppleres med serotyping. Reiseanamnese og evt. funn av isolatet i blodkultur eller beinmarg hører med til vurderingen. Serotype kan bestemmes fenotypisk ved agglutinerings mot et utvalg av antisera. [4] Tidligere har det vært anbefalt at laboratorier som gjør *Salmonella* dyrkning i feces har antisera for å påvise *Salmonella* Typhi og *Salmonella* Paratyphi, samt de vanligste non-tyfoid variantene. [7]

Forslag til anbefaling: Anbefalt metode for serotyping er et utvalg av antisera som kan identifisere tyfoid feber variantene samt de vanligste non-tyfoid variantene. Kan kombineres med kommersiell fenotypisk identifikasjon eller utvidet 3-rørs forgjøring, særlig dersom en ikke har antisera tilgjengelig lokalt. Renkultur av *Salmonella* spp. isolater sendes referanselaboratoriet ved FHI.

Yersinia species

Et fåtall av 50+ serotyper av *Yersinia enterocolitica* kan forårsake GI-sykdom med diare og feber, i Norge i all hovedsak serogruppe O:3 (og O:9). Differensiering mellom patogen og apatogene serotyper er mest relevant ved funn *Y. enterocolitica* i feces. Påvises svært sjelden i andre prøvematerialer. Påvisning av patogene serotype kan bestemmes fenotypisk ved agglutinerings mot et utvalg av antisera. [4] Tidligere har det vært anbefalt at laboratorier som gjør *Yersinia* dyrkning i feces har antisera for å påvise serogruppe O:3 og O:9. [12] *Yersinia* spp. stammer med sikker eller uklar patogenisitet sendes referanselaboratoriet ved FHI for karakterisering. [7]

Forslag til anbefaling: Anbefalt fenotypisk metode for serotyping er et utvalg av antisera som kan identifisere O:3 og O:9. Mest aktuelt for laboratorier som tilbyr fecesdyrkning. Stammer med sikker eller uklar patogenisitet sendes referanselaboratoriet ved FHI.

Yersinia pseudotuberculosis kan gi GI-sykdom med diare og feber på samme måte som *Y. enterocolitica*. Sjelden påvist i Norge, de vanligste patogene serogruppene er O:1 og O:3. Det urimelig å forvente at laboratoriene skal ha antisera for en så sjelden patogen. Isolater sendes referanselaboratoriet ved FHI for karakterisering. [7]

Forslag til anbefaling: Ingen serotyping lokalt, stammen sendes referanselaboratoriet ved FHI for karakterisering.

Langt viktigere er det å kunne skille *Y. pseudotuberculosis* fra *Y. pestis* som forårsaker pest. Det har ikke vært rapportert om pesttilfeller i Norge, tilstanden har vært meldepliktig til MSIS siden 1975. Ansees som en zoonose men er også relevant som bioterroragens. Reiseanamnese, klinisk bilde og til en viss grad prøvematerialet stammen er isolert fra kan gi mistanke. Konsulter FHI ved første mistanke. Tilstanden er varslingspliktig etter MSIS forskriften. Mistanke om bioterror utløser også CBRE regelverket. [13] Alt arbeid med prøvematerialer og levende kulturer med mistenkt *Y. pestis* skal foregå i BSL3 fasiliteter.

Rudrik et al. viste i studie fra 2017 at ved bruk av Bruker Biotyper og Vitek MS var det kun Brukers SR-bibliotek som kan identifiserer *Y. pestis*. Stammene ble ellers feilidentifisert som *Y. pseudotuberculosis*. [14] De fleste biokjemiske id-systemer kan gjenkjenne mikroben, men gjør bruk av levende mikrober som kan være problematisk med tanke på å overholde BSL3-sikkerhetstiltak. [15]

Forslag til anbefaling for differensiering av *Y. pseudotuberculosis* og *Y. pestis*:
Vurder journal og kliniske opplysninger. Kontakt kliniker for å bekrefte eller avkrefte mistanke om pest. Dersom pest ikke kan utelukkes kontakt FHI. Videre håndtering av stammen i henhold til lokale prosedyrer.

Klebsiella pneumoniae

K. pneumoniae species kompleks består p.t. av seks nært beslektede arter- *K. pneumoniae* sensu stricto, *K. variicola*, *K. quasipneumoniae*, *K. quasivariicola* og *K. africana*. Differensiering av artene er mulig med MALDI-TOF, men artsdatabasene inneholder ikke alle artene slik at feilidentifikasjon mellom artene i artskomplekset forekommer. Det finnes ingen gode fenotypiske tester for differensiering innad i artskomplekset. Klinisk eller for resistensbestemmelse er det heller ikke nødvendig. Nøkkeltest for skille mot *K. oxytoca* er negativ indol-test. [16-18]

Forslag til anbefaling: Ingen fenotypisk differensiering innen KpSC nødvendig. Dersom ønskelig kan svar rapporteres som *K. pneumoniae* species kompleks dersom beste score er *K. pneumoniae* eller annen art i KpSC.

Klebsiella oxytoca/K. indicae /Raoultella

K. oxytoca species kompleks (KoSC) består p.t. ni arter – *K. oxytoca* sensu stricto, *K. grimontii*, *K. huaxiensis*, *K. michiganensis*, *K. pasteurii*, *K. spallanzanii*, og tre nye ikke navngitte arter. I tillegg finnes nært beslektede *K. indicae* og gruppen med *Raoultella ornithinolytica*, *R. planticola*, *R. electrica* og *R. terrigena*. Klinisk er *K. oxytoca* hyppigere rapportert som humanpatogen, sammenlignet med *Raoultella* spp. uten at *Raoultella* spp. av den grunn kan ansees apatogen. *R. ornithinolytica* og *R. planticola* er hyppigst påvist hos mennesker. [19] Det finnes lite data om *R. electrica* og *K. indicae*.

For resistensbestemmelse er viktig å skille KoSC fra *Raoultella* spp., da førstnevnte har en OXY-type kromosomal betalaktamase som kan hyperproduseres og gi en ESBL-lignende fenotype.[20] Slik hyperproduksjon er beskrevet for *K. oxytoca* og *K. michiganensis* men det er rimelig å tro at dette også kan gjelde for de andre artene i KoSC.

Differensiering av artene i KoSC mulig med MALDI-TOF, men artsdatabasene inneholder ikke alle artene slik at feilidentifikasjon mellom artene i artskomplekset forekommer. Det finnes ingen gode fenotypiske tester for differensiering innad i artskomplekset. Klinisk eller for resistensbestemmelse er det heller ikke nødvendig. Nøkkeltest for skille mot KpSC er indol (positiv). [21]

Differensiering mellom KoSC og *Raoultella* spp. kan være problematisk både biokjemisk og ved bruk av MALDI-TOF. de Jong et. al. viste i en studie fra 2013 god treffsikkerhet for differensiering mellom KoSC og *R. species* ved bruk av en 10% differensieringsregel. [22] Dersom beste identifikasjonstreff var *Raoultella* sp. og scoredifferansen til beste KoSC treff var >10% (f.eks 2,3 vs 2.0; differanse 0,3 (13 %)) ble identifikasjonen akseptert. I motsatt tilfellet kunne KoSC aksepteres så lenge det var beste treff. [22-24]

Forslag til anbefaling: Ingen fenotypisk differensiering innenfor KoSC nødvendig. Dersom ønskelig kan svar rapporteres som *K. oxytoca* species kompleks dersom beste score er *K. oxytoca* eller annen art i KoSC..

Differensiering av KoSC/Raoultella species: Ved klinisk viktige isolater og/eller resistens mot 3. generasjons cephalosporiner, suppler med fenotypisk identifikasjon (VITEK2 el lign.) og vurder resultat av enkelttester, evt. suppler med vurdering av id-score. Evt. kommenter forbehold om artsidentifikasjon i svaret.

Enterobacter cloacae

Enterobacter cloacae Complex (EcC) består p.t. av minst ni arter; *E. cloacae*, *E. asburiae*, *E. hormaechei*, *E. kobei*, *E. ludwigii*, *E. mori*, *E. bugadensis*, *E. nimipressuralis*, og *E. roggenkampii*. Avhengig av metode kan *E. hormaechei* deles enten tre separate species, nesten som et eget artskompleks (*E. xiangfangensis*, *E. hoffmanii*, og *E. hormaechei*) eller som fem subspecies av *E. hormaechei* (subsp. *steigerwaltii*, *xiangfangensis*, *hoffmanii*, *oharae*, og *hormaechei*). *E. hormaechei* er sterkest assosiert til sykehuservevet infeksjon og antibiotikaresistens. [25-28]

Differensiering innenfor EcC sannsynligvis mulig med fullstendige databaser, men presisjonen er ukjent. Det finnes ingen gode fenotypiske systemer for differensiering innenfor EcC. [28, 29]

Forslag til anbefaling. Ingen fenotypisk differensiering innenfor EcC nødvendig. Dersom ønskelig kan svar rapporteres som EcC dersom beste score tilhører art innenfor EcC.

Serratia

Serratia marcescens complex (SmC) består p.t. av *S. marcescens*, *S. nematodiphila* og *S. ureilytica*. *S. marcescens* er sterkest assosiert til sykehuservevet infeksjon og antibiotikaresistens. *Serratia liquefaciens* Complex (SIC) består p.t. av *S. liquefaciens*, *S. grimesii*, *S. myotis*, *S. plymuthica*, *S. proteamaculans* og *S. quinivorans*. Det er omdiskutert om SIC er en del av SmC, men siden MALDI-TOF kan skille mellom disse to kompleksene kan det være hensiktsmessig å rapportere de som to ulike. Det finnes fenotypiske forskjeller innad i kompleksene, men om disse er egnet til sikker differensiering er usikkert. [30-32]

Forslag til anbefaling. Ingen fenotypisk differensiering innenfor SmC eller SIC nødvendig. Dersom ønskelig kan svar rapporteres som SmC eller SIC dersom beste score tilhører art innenfor det respektive kompleks.

Aeromonas

Aeromonas genus består av minst 36 ulike arter hvor minst 19 ansees som humanpatogene. De hyppigst forekommende humanpatogene artene er *Aeromonas caviae*, *A. dhakensis*, *A. veronii*, og *A. hydrophila*. Bruker (Revision K) advarer i sine «matching hints» at *Aeromonas* er vanskelig å identifisere til artsnivå og Kitagawa et. al. (2022) viste og problemer knyttet til identifikasjon av de fire vanligste artene, bl.a. fordi *A. dhakensis* manglet i databasene. Andre arter var heller ikke representert. Det finnes ingen gode fenotypiske tester for differensiering [33, 34]

Forslag til anbefaling: Ingen fenotypisk differensiering tilgjengelig. Besvares som *Aeromonas* sp.

Neisseria

Neisseria genus består av i overkant av 30 arter, hvor fylogenen har gjennomgått betydelige endringer de siste årene i lys av genomisk karakterisering. Artklassifisering er tildels problematisk på grunn av nært slektskap og hyppighet av horisontal genoverføring. [35, 36] *N. gonorrhoeae* og *N. meningitidis* er de viktigste humanpatogene artene.

N. gonorrhoeae overføres ved seksuell kontakt eller ved vertikal overføring fra mor til barn under fødsel. Gir typisk infeksjon i ytre eller indre genitalia, urethra eller hals. Kan progrediere til invasiv infeksjon, f.eks. med sekundær purulent artritt. Nyfødte kan affiseres av konjunktivitt. Kolonisering uten infeksjon i genitale slimhinner (og hals) kan forekomme.

Invasiv *N. meningitidis* infeksjon er i første rekke assosiert med meningitt og bakteremi eller sepsis. Mindre vanlig er pneumoni og purulent artritt. Invasiv sykdom er varslingspliktig etter MSIS forskriften. Verdt å merke er at både konjunktivitt og uretritt er beskrevet, sistnevnte i all hovedsak hos menn. Kolonisering i øvre luftveier uten infeksjon forekommer relativt ofte. Vaksiner er tilgjengelig mulig mot de vanligste invasive serogrupperne; A, C, W, Y og B.

N. weaveri, *N. zoodegmatis* og *N. animaloris* er assosiert med infeksjon etter dyrebitt, men bittinfeksjon med andre dyreassosierte *Neisseria* spp. kan også forekomme. En rekke human-assosierte *Neisseria* spp. forekommer som koloniseringsflora i øvre luftveier, men forårsaker sjelden infeksjon. [4, 37, 38]

Klinisk er det viktig å kunne skille *N. gonorrhoeae* og *N. meningitidis*, da disse i noen tilfeller kan ha overlappende infeksjonsfokus og har ulike krav til terapivalg og smittevern (vaksinering, testing av nærkontakter/sekspartnere, varslingsplikt). Videre er det viktig å kunne skille disse fra lavpatogene/apatogene *Neisseria*-arter, i første rekke et problem når bakteriestammen er isolert fra slimhinner i genitalia og øver luftveier.

MALDI-TOF identifiserer *N. gonorrhoeae* uten videre problemer, gitt at produsentens kriterier følges. [39, 40] Det er rapportert identifikasjonsproblemer knyttet til å skille *N. meningitidis* fra *Neisseria*-arter som tilhører normalfloraen (særlig *N. cinerea*, *N. polysaccharea*, *N. mucosa* og *N. bergeri*). Problemet synes å være størst for at andre arter feilidentifiseres som *N. meningitidis*. [40-42] Hong et. al. 2019 viste at identifikasjonen kunne forbedres ved å oppdatere spekterdatabasen. [41] Presisjonen ved identifikasjon av andre *Neisseria* species er dårlig kartlagt. Bruker angir f.eks. i sine matching hints (Revision K) "*Species flavescens / perflava / polysaccharea / subflava of the genus Neisseria have very similar patterns: Therefore, distinguishing their species is difficult.*" og "*Species macacae / mucosa / sicca of the genus Neisseria have very similar patterns: Therefore, distinguishing their species is difficult.*"

Kommersiell fenotypisk tester har vist varierende resultater sammenlignet med 16S rRNA identifisering og yter sannsynligvis best i identifikasjonen av *N. gonorrhoeae* og *N. meningitidis*, men kan ikke sikkert skille *N. gonorrhoeae* fra uretrittassosiert *N. meningitidis* [38, 43-46]. Det er også rapportert et tilfelle hvor fenotypiske metode (RapidNH) feilidentifiserte *N. meningitidis* som en apatogen *Neisseria*-art, denne var ikke forsøkt identifisert med MALDI-TOF MS. [47]. De fem stammene i Hong et. al. 2019 feilidentifisert som *N. meningitidis* ble alle identifisert som andre *Neisseria*-arter ved hjelp av biokjemisk testing (metode ikke angitt). [41]

Forslag til anbefaling:

Identifikasjon av ***N. gonorrhoeae*** aksepteres som hovedregel etter produsents kriterier. Fenotypisk identifikasjon er som hovedregel ikke nødvendig. Mange tilfeller vil uansett ha molekylært påvist *N. gonorrhoeae* i prøve fra samme lokalisasjon. Gitt kliniske og sosiale konsekvenser av et funn, bør det være lav terskel for supplerende testing med molekylær metode, dersom dette ikke allerede er utført. Dette gjelder særlig ved funn i luftveiene.

Identifikasjon av ***N. meningitidis*** kan aksepteres etter produsents kriterier som foreløpig identifikasjon, særlig ved alvorlig klinikk og/eller isolat fra sterilt område (f.eks. blod og cerebrospinalvæske). Vurder kliniske opplysninger og kontakt evt. rekvirent for ytterligere avklaring av klinisk mistanke. Vurder 16S rRNA eller målrettet PCR ved behov for rask avklaring. Serogruppering bør gjøres som standard for å skille A, C, Y og W fra B, og andre serogrupper/ikke typbare stammer.

Ved funn i genitalia vurder mulighet for uretrittassosiert *N. meningitidis*. Suppler med molekylær testing (f.eks. 16S rRNA eller målrettet PCR). Ved funn i andre lokalisasjoner suppler med kommersiell fenotypisk test (f.eks. API-NH) dersom funnet kan ha klinisk relevans.

MALDI-TOF MS identifisering av **andre *Neisseria* spp** kan aksepteres etter produsents kriterier. Ved alvorlig klinikk og/eller isolat fra sterilt område (f.eks. blod og cerebrospinalvæske) vurder å supplere identifikasjon med molekylær identifikasjon (f.eks. 16S rRNA eller målrettet PCR).

Streptococcus dysgalactiae*/*Streptococcus canis

Nybakken et. al viste i en publikasjon fra 2020 at differensiering av de betahemolytiske streptokokk-artene *S. dysgalactiae* og *S. canis* ved hjelp av Bruker MALDI-TOF var problematisk på grunn av utvalget av spektre- men at dette kunne løses ved endre spekter utvalget [1] *S. canis* er sjelden forekommende hos mennesker, og bør kanskje i første rekke mistenkes hos pasienter som har hatt omgang med hund. Differensiering til speciesnivå har i all hovedsak liten klinisk betydning, men kan være av interesse dersom pasienten utvikler streptokokk-assosierte komplikasjoner som glomerulonefritt og reumatisk feber. [4]

Det kan også være av interesse i epidemiologisk sammenheng, da en del laboratorier sannsynligvis nøyer seg med å rapportere Lancefield gruppe, f.eks. «betahemolytiske streptokokker gruppe G» - som kan antas å være lettere forståelig for klinikere. Ved behov for fenotypisk differensiering kan man

skille mellom *S. dysgalactiae* og *S. canis* ved bruk av Lancefield-grupping og evt. CAMP-test. Se tabell 1.

Tabell 1. Fenotypiske karakteristika hos *Streptococcus dysgalactiae* og *Streptococcus canis*

	Lancefield gruppe	Vert	CAMP-test
<i>S. dysgalactiae</i> subsp. <i>dysgalactiae</i>	C	Dyr	-
<i>S. dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i>	A, C, G, L	Mennesker (Dyr)	-
<i>S. canis</i>	G	Hund, (Mennesker)	+

Tabellen er modifisert etter referanse 4.

Forslag til anbefaling: Alle isolater Lancefield-agglutineres. Lancefield-gruppe C rapporteres som *S. dysgalactiae* uten subspecies. Ved Lancefield gruppe G og behov for ytterligere differensiering utføres CAMP-test.

Viridansstreptokokker, inkl *Streptococcus pneumoniae*. Andre non-hemolytiske streptokokker.

Taksonomien hos viridansstreptokokkene har vært igjennom betydelig endringer de siste tiårene, hvor majoriteten av arter nå tilhører en taksonomisk gruppe (Tabell 2). [48, 49] ASM Manual of Clinical Microbiology, 12th ed. plasserer *S. gordonii*, *S. parasanguinis* og *S. sanguinis* inn i *S. mitis*-gruppen med basis i eldre litteratur. [4] Helgenomanalyser plasserer imidlertid disse artene som en egen *S. sanguinis*-gruppe.[50] Se tabell 2 for oversikt over arter i de ulike viridans-gruppene.

Klinisk er det viktig å identifisere *S.angiosus*-gruppen som er assosiert med abscessdannelse og *S.pneumoniae* (og *S.pseudopneumoniae* hos sårbare pasientgrupper) som luftveispatogene/invasive arter i *S. mitis* gruppen. *S. gallolyticus* subsp. *gallolyticus* og *S. salivarius* er assosiert med malignitet.[4]

Maldi-TOF kan identifisere til gruppenivå, men har tidligere hatt problemer med å skille innad i gruppene.[4] Det har vært gjort betydelig innsats for å forbedre identifikasjonen, særlig av *S. pneumoniae*. Både Bruker og Vitek MS system ser ut å gi god identifikasjon av *S. pneumoniae* dersom produsentens anbefalinger følges. Utvalget av streptokokk-arter i de fleste studier er nokså begrenset, så det er uvisst om presisjonen er like god for alle arter innenfor de ulike gruppene. [50-54] Som for andre arter er det vist at der er mulig å oppnå bedre identifikasjon ved modifisering av databasen. [55] Andre viridansarter, i hovedsak fra *S. mitis*-gruppen er knyttet til endokarditt og infeksjon hos sårbare pasientgrupper. Se Doern et al. og Joyce et al. for mer utfyllende informasjon. [52, 53]

Det finnes en rekke andre non-hemolytiske streptokokkarter som ikke klassifiseres som viridansstreptokokker, f.eks. *S. uberis* og *S. urinalis*. Disse er sjeldent forekommende hos mennesker, men infeksjon er beskrevet.[48] Fylogenetisk grupperes de fleste sammen med de pyogene streptokokkene [50], og omfattes da ikke av EUCAST' brytningspunkter for viridansstreptokokker. Fenotypisk identifikasjon av *S.pneumoniae* kan gjøres med kolonimorfologi («klassisk smultring»), optochin følsomhetstest (må utføres i 5 % CO₂), supplert med galleoppløselighet ved trange optochin-soner. Optochin er beheftet med viss grad av falske negative (resistente *S.pneumoniae*) og falske positive resultater (følsomme *S.mitis*), særlig i stammer isolert direkte fra luftveisprøver. Det finnes ingen god fenotypisk identifisering av *S.pseudopneumoniae*. [56, 57] Fenotypisk identifikasjon av andre arter, utover å antyde gruppetilhørighet er problematisk siden mange arter ikke er inkludert i de fenotypiske databasene. [4] Enkelttester i kommersielle fenotypiske system som API kan vurderes sammen med resultatene fra Beck et al. 2008 for å differensiere innad i Bovis-gruppen. [58]

Tabell 2 – Oversikt over viridansstreptokokker

S.anginosus gruppen:	S.mitis gruppen:	S. sanguinis gruppen:	S.mutans gruppen:	S.salivarius gruppen:	S.bovis gruppen:
S.anginosus S.constellatus S.intermedius	S.australis S.cristatus S.gordonii S.infantis S.lactarius S.massiliensis S.mitis S.oralis S.orisratti S.parasanguinis S.peroris S.pneumoniae * S.pseudopneumoniae S.rubneri S.sanguinis S.sinensis	S.gordonii S.parasanguinis S.sanguinis	S.criceti S.downei S.mutans S.ratti S.sobrinus	S.salivarius S.vestibularis	S.alactolyticus S.equinus S.gallolyticus S.infantarius S.lutetiensis*

Tabellen er utarbeidet med basis i referanse 4 og 50. Arter normalt bare funnet hos dyr ikke inkludert. *S.infantarius subsp. coli. * Bør svares ut som S.pneumoniae

Forslag til anbefaling:

Generelt kan Maldi-TOF identifikasjon av viridansstreptokokker om ønskelig rapporteres på gruppenivå dersom beste score tilhører art innenfor den respektive gruppen. Maldi-TOF MS identifikasjon av andre non-hemolytiske streptokokker kan aksepteres etter produsentens kriterer.

S. pneumoniae kan primært identifiseres etter produsentens kriterier. Supplerende identifikasjon gjøres med klassisk morfologi (hvis til stede) og optochin-følsomhet og er særlig aktuelt ved klinisk viktige isolat og/eller der det utføres resistensbestemmelse. Ytterligere fenotypisk identifikasjon kan gjøres med galleoppløselighetstest ved trang optochin-sone eller utypisk kolonimorfologi og/eller resistensmønster – særlig aktuelt for isolat direkte fra luftveisprøver.

Bacillus cereus/anthracis

Bacillus cereus - gruppen (BcG) består av Bacillus cereus, B. cytotoxicus, B. mycoides, B. pseudomycoides, B. thuringiensis og B. anthracis. BcG er med unntak av B. anthracis opportunistiske patogener, men forekommer ikke sjelden som kontaminasjon fra hud i blodkultur. Alle artene er sporedannere.

B. anthracis forårsaker anthrax(miltbrann), og kan infisere en rekke organer inkludert hud, lunger og tarm. Ansees som en zoonose, men er også relevant som bioterroragens (f.eks. pulverbrev). Hyppige smitteveier er via inhalasjon, matinntak, eller håndtering eller injeksjon av kontaminert materiale. Sjelden påvist i Norge, siste rapporterte tilfellet var assosiert til kontaminert heroin.[59] Bør særlig mistenkes ved reiseanamnese, håndtering av syke eller døde dyr, hos veterinærer eller hos injiserende/inhalerende rusmisbrukere.

Bekreftede kulturer (og pulverbrev) bør håndteres etter BSL3-kriterer. Som minimum bør alt arbeid med uavklarte kulturer foregå i avtrekkskabinett kl.2. Kontakt FHI ved klinisk mistanke om B. anthracis. Tilstanden er varslingspliktig etter MSIS forskriften. Mistanke om bioterror utløser også CBRE regelverket. [13]

B. anthracis er inkludert i og kan indentifiseres av Brukers SR-bibliotek. Kan ellers feilidentifiseres som en av de andre artene i BcG. Det bemerkes at fullstendig inaktivering av Bacillus sporer i forkant av MALDI-TOF er utfordrende. Ideelt bør man, dersom man ikke har en sikker sporeinaktiverende forbehandling, ha ekskludert mistanke om B. anthracis før MALDI-TOF analysen utføres. [14] [60] Fenotypisk er B. anthracis hverken motil eller betahemolytisk (etter 24 timer), men vanligvis penicillin følsom (men ikke 100%) - disse karakteristikaene kan også forekomme hos de andre artene i BcG. Praktisk kan testene være vanskelige å gjennomføre og tolke vurdert utfra resultatene fra sist denne problemstillingen var belyst i Ringtest 1 2019. [4, 60] I sum bør laboratoriene ha etablert prosedyre for håndtering av denne problemstillingen utfra egne laboratoriefasiliteter, tilgjengelige metoder og

kompetanse. (bør sees i sammenheng prosedyrer for direkte identifikasjon av gram positive staver i blodkultur).

Forslag til anbefaling: *Bacillus anthracis* kan ekskluderes ved påvist motilitet og beta-hemolyse, dersom dette utføres korrekt. Vurder journal og kliniske opplysninger. Kontakt kliniker for å bekrefte eller avkrefte mistanke om anthrax. Dersom anthrax ikke kan utelukkes kontakt FHI. For andre arter i BcG kan disse om ønskelig rapporteres som *Bacillus cereus* dersom beste score er *B. cereus* eller annen art i BcG.

Referanser:

1. Nybakken, E.J., et al., Identification of *Streptococcus dysgalactiae* using matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry; refining the database for improved identification. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2021. 99(1): p. 115207.
2. Croxen, M.A., et al., Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev*, 2013. 26(4): p. 822-80.
3. Smittevernhandboka. Available from: <https://www.fhi.no/sm/smittevernhandboka/>.
4. Manual of Clinical Microbiology, , 12th edition. 12 ed. Vol. 1. 2019.
5. Lassen, J., Rapid identification of gram-negative rods using a three-tube method combined with a dichotomic key. *Acta Pathol Microbiol Scand Suppl*, 1975. 83(6): p. 525-33.
6. van den Beld, M.J. and F.A. Reubsaet, Differentiation between *Shigella*, enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC) and noninvasive *Escherichia coli*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2012. 31(6): p. 899-904.
7. Strategimøte nr.29, 2015 - Bakteriologisk fecesdiagnostikk , in Eksterne kvalitetsvurderinger i bakteriologi, mykologi og parasittologi. 2018.
8. O'Hara, C.M. and J.M. Miller, Evaluation of the Vitek 2 ID-GNB assay for identification of members of the family Enterobacteriaceae and other nonenteric gram-negative bacilli and comparison with the Vitek GNI+ card. *J Clin Microbiol*, 2003. 41(5): p. 2096-101.
9. Gladstone, R.A., et al., Emergence and dissemination of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* causing bloodstream infections in Norway in 2002-17: a nationwide, longitudinal, microbial population genomic study. *Lancet Microbe*, 2021. 2(7): p. e331-e341.
10. Gati, N.S., et al., Origin and Evolution of Hybrid Shiga Toxin-Producing and Uropathogenic *Escherichia coli* Strains of Sequence Type 141. *J Clin Microbiol*, 2019. 58(1).
11. RINGTEST FOR BAKTERIOLOGI, MYKOLOGI OG PARASITTOLOGI 1. 2023.
12. RINGTEST FOR BAKTERIOLOGI 3. 2006.
13. Nasjonal faglig retningslinje for håndtering av CBRNE-hendelser med personskaade 2017.
14. Rudrik, J.T., et al., Safety and Accuracy of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry for Identification of Highly Pathogenic Organisms. *J Clin Microbiol*, 2017. 55(12): p. 3513-3529.
15. O'Hara C, M., Manual and automated instrumentation for identification of Enterobacteriaceae and other aerobic gram-negative bacilli. *Clin Microbiol Rev*, 2005. 18(1): p. 147-62.
16. Wyres, K.L., M.M.C. Lam, and K.E. Holt, Population genomics of *Klebsiella pneumoniae*. *Nat Rev Microbiol*, 2020. 18(6): p. 344-359.
17. Rodrigues, C., et al., Identification of *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella quasipneumoniae*, *Klebsiella variicola* and Related Phylogroups by MALDI-TOF Mass Spectrometry. *Front Microbiol*, 2018. 9: p. 3000.
18. Long, S.W., et al., Whole-Genome Sequencing of Human Clinical *Klebsiella pneumoniae* Isolates Reveals Misidentification and Misunderstandings of *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella variicola*, and *Klebsiella quasipneumoniae*. *mSphere*, 2017. 2(4).
19. Yang, J., et al., *Klebsiella oxytoca* Complex: Update on Taxonomy, Antimicrobial Resistance, and Virulence. *Clinical Microbiology Reviews*, 2022. 35(1).

20. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance Version 2.0. 2017, EUCAST.
21. Merla, C., et al., Description of *Klebsiella spallanzanii* sp. nov. and of *Klebsiella pasteurii* sp. nov. *Frontiers in Microbiology*, 2019. 10.
22. de Jong, E., et al., Differentiation of *Raoultella ornithinolytica/planticola* and *Klebsiella oxytoca* clinical isolates by matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2013. 75(4): p. 431-3.
23. de Alegría Puig, C.R., et al., Comparison between Vitek MS, Bruker Biotyper, Vitek2, and API20E for differentiation of species of the genus *Raoultella*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2019. 38(3): p. 467-470.
24. Alves, M.S., et al., Identification of clinical isolates of indole-positive and indole-negative *Klebsiella* spp. *J Clin Microbiol*, 2006. 44(10): p. 3640-6.
25. Davin-Regli, A., J.-P. Lavigne, and J.-M. Pagès, <i>Enterobacter</i> spp.: Update on Taxonomy, Clinical Aspects, and Emerging Antimicrobial Resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 2019. 32(4): p. 10.1128/cmr.00002-19.
26. Qiu, X., et al., Genome sequence-based species classification of *Enterobacter cloacae* complex: a study among clinical isolates. *Microbiol Spectr*, 2024. 12(6): p. e0431223.
27. Wu, W., Y. Feng, and Z. Zong, Precise Species Identification for *Enterobacter*: a Genome Sequence-Based Study with Reporting of Two Novel Species, *Enterobacter quasiroggenkampii* sp. nov. and *Enterobacter quasimori* sp. nov. *mSystems*, 2020. 5(4).
28. Godmer, A., et al., Revisiting Species Identification within the *Enterobacter cloacae* Complex by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry. *Microbiol Spectr*, 2021. 9(1): p. e0066121.
29. Thelen, P., et al., A side-by-side comparison of the new VITEK MS PRIME and the MALDI Biotyper sirius in the clinical microbiology laboratory. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2023. 42(11): p. 1355-1363.
30. Ono, T., et al., Global population structure of the *Serratia marcescens* complex and identification of hospital-adapted lineages in the complex. *Microb Genom*, 2022. 8(3).
31. Williams, D.J., et al., The genus *Serratia* revisited by genomics. *Nat Commun*, 2022. 13(1): p. 5195.
32. Aracil-Gisbert, S., et al., The ICU environment contributes to the endemicity of the "Serratia marcescens complex" in the hospital setting. *mBio*, 2024. 15(5): p. e0305423.
33. Fernández-Bravo, A. and M.J. Figueras, An Update on the Genus *Aeromonas*: Taxonomy, Epidemiology, and Pathogenicity. *Microorganisms*, 2020. 8(1).
34. Kitagawa, D., et al., Comparison of MALDI-TOF mass spectrometry and *rpoB* gene sequencing for the identification of clinical isolates of *Aeromonas* spp. *Heliyon*, 2022. 8(11): p. e11585.
35. Diallo, K., et al., Genomic characterization of novel *Neisseria* species. *Scientific Reports*, 2019. 9(1).
36. Zhong, L., et al., Distributed genotyping and clustering of *Neisseria* strains reveal continual emergence of epidemic meningococcus over a century. *Nat Commun*, 2023. 14(1): p. 7706.
37. Rodriguez, E.I., Y.L. Tzeng, and D.S. Stephens, Continuing genomic evolution of the *Neisseria meningitidis* cc11.2 urethritis clade, NmUC: a narrative review. *Microb Genom*, 2023. 9(10).
38. Burns, B.L. and D.D. Rhoads, Meningococcal Urethritis: Old and New. *J Clin Microbiol*, 2022. 60(11): p. e0057522.
39. Avery, E.G., et al., Evaluation of the utility and cost of secondary confirmatory testing for *Neisseria gonorrhoeae* identification from culture. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2024. 109(3): p. 116336.
40. Morel, F., et al., Use of Andromas and Bruker MALDI-TOF MS in the identification of *Neisseria*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2018. 37(12): p. 2273-2277.
41. Hong, E., Y. Bakhalek, and M.K. Taha, Identification of *Neisseria meningitidis* by MALDI-TOF MS may not be reliable. *Clin Microbiol Infect*, 2019. 25(6): p. 717-722.

42. de Block, T., et al., Genomic oropharyngeal *Neisseria* surveillance detects MALDI-TOF MS species misidentifications and reveals a novel *Neisseria cinerea* clade. *J Med Microbiol*, 2024. 73(8).
43. Mecherghi, A., W. Achour, and A. Ben Hassen, Comparison of 16S rRNA sequencing with biochemical testing for species-level identification of clinical isolates of *Neisseria* spp. *World J Microbiol Biotechnol*, 2014. 30(8): p. 2181-8.
44. de Melo Oliveira, M.G., et al., Accurate identification of fastidious Gram-negative rods: integration of both conventional phenotypic methods and 16S rRNA gene analysis. *BMC Microbiol*, 2013. 13: p. 162.
45. Rennie, R.P., et al., Multicenter evaluation of the new Vitek 2 *Neisseria*-*Haemophilus* identification card. *J Clin Microbiol*, 2008. 46(8): p. 2681-5.
46. Sönksen, U.W., et al., Fastidious Gram-Negatives: Identification by the Vitek 2 *Neisseria*-*Haemophilus* Card and by Partial 16S rRNA Gene Sequencing Analysis. *Open Microbiol J*, 2010. 4: p. 123-31.
47. Deak, E., N. Green, and R.M. Humphries, Microbiology test reliability in differentiation of *Neisseria meningitidis* and *Neisseria polysaccharea*. *J Clin Microbiol*, 2014. 52(9): p. 3496.
48. Facklam, R., What happened to the streptococci: overview of taxonomic and nomenclature changes. *Clin Microbiol Rev*, 2002. 15(4): p. 613-30.
49. Gao, X.Y., et al., Comparative genomics of the bacterial genus *Streptococcus* illuminates evolutionary implications of species groups. *PLoS One*, 2014. 9(6): p. e101229.
50. Harju, I., et al., Improved Differentiation of *Streptococcus pneumoniae* and Other *S. mitis* Group Streptococci by MALDI Biotyper Using an Improved MALDI Biotyper Database Content and a Novel Result Interpretation Algorithm. *J Clin Microbiol*, 2017. 55(3): p. 914-922.
51. Branda, J.A., et al., Performance of the Vitek MS v2.0 system in distinguishing *Streptococcus pneumoniae* from nonpneumococcal species of the *Streptococcus mitis* group. *J Clin Microbiol*, 2013. 51(9): p. 3079-82.
52. Fan, W.T., et al., Performance of the matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry system for rapid identification of streptococci: a review. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2017. 36(6): p. 1005-1012.
53. Pan, F., et al., Performance of Two Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) Systems for Identification of the Viridans Group Streptococci. *Infect Drug Resist*, 2023. 16: p. 2901-2909.
54. Wan, T.W., et al., Performance assessment of the Bruker Biotyper MALDI-TOF MS for the identification of difficult-to-identify viridans group streptococci. *J Clin Microbiol*, 2023. 61(12): p. e0114323.
55. Öberg, J., M. Inghammar, and B. Nilson, Improved identification of *Streptococcus bovis*-*Streptococcus equinus*-complex species and subspecies by MALDI-TOF MS using a novel library. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2023. 107(3): p. 116045.
56. Slotved, H.C., R.R. Facklam, and K. Fuursted, Assessment of a novel bile solubility test and MALDI-TOF for the differentiation of *Streptococcus pneumoniae* from other mitis group streptococci. *Sci Rep*, 2017. 7(1): p. 7167.
57. Satzke, C., et al., Standard method for detecting upper respiratory carriage of *Streptococcus pneumoniae*: updated recommendations from the World Health Organization Pneumococcal Carriage Working Group. *Vaccine*, 2013. 32(1): p. 165-79.
58. Beck, M., R. Frodl, and G. Funke, Comprehensive study of strains previously designated *Streptococcus bovis* consecutively isolated from human blood cultures and emended description of *Streptococcus gallolyticus* and *Streptococcus infantarius* subsp. coli. *J Clin Microbiol*, 2008. 46(9): p. 2966-72.
59. Caugrant, D.A., et al., Systemic anthrax in an injecting drug user: Oslo, Norway April 2000. *Weekly releases (1997–2007)*, 2000. 4(19): p. 1605.
60. RINGTEST FOR BAKTERIOLOGI, MYKOLOGI OG PARASITTOLOGI 1 . 2019.

Identifikasjon av anaerober med Maldi-TOF MS

Forfatter: Tore Taksdal Stubhaug, overlege, mikrobiologisk avdeling, Sykehuset i Vestfold

FORSLAG TIL ANBEFALINGER (RØD SKRIFT = TIL DISKUSJON KONTROVERSIELLE)

ANBEFALING 1 – BRUK AV MALDI-TOF TIL IDENTIFISERING AV ANAEROBER

MALDI-TOF MS er godt egnet som hovedmetode for identifikasjon av klinisk relevante anaerober. Den viktigste enkeltfaktoren med betydning for graden av vellykket identifikasjon er kvaliteten på referansedatabasen. Bruk av «on plate» ekstraksjon med maursyre anbefales, spesielt for gram positive anaerober, fusobakterier og saktevoksende arter. For disse artene anbefales det videre å inokulere minst 2 spot. Identifikasjon med score $\geq 1,8$ kan regnes som sikker til artsnivå forutsatt at øvrige konsistenskrav er tilfredsstilt. Anaerober kan identifiseres med MALDI-TOF direkte fra positive blodkulturflasker og laboratoriet bør da validere en tilpasset cut-off for godkjent identifikasjon.

ANBEFALING 2 – HÅNTERING AV TAKSONOMIENDRINGER OG SPESIELLE FORHOLD I SLEKTEN *BACTEROIDES*

Laboratoriene bør holde seg oppdatert på taksonomiendringer. Ved oppdatering av databaser må følgeskrivet gjennomgås for å se etter endringer som kan påvirke bruken av MALDI-TOF i rutinen. Arter som er kjent å være vanskelige å skille med MALDI-TOF bør besvares konsistent; herunder noen arter fra slekten *Bacteroides*. Arten *Bacteroides fragilis* vil i fremtiden trolig bli skilt i to forskjellige arter.

ANBEFALING 3 – IDENTIFIKASJON AV *CLOSTRIDIUM BOTULINUM*

MALDI-TOF MS i standard bruk kan ikke sikkert identifisere *Clostridium botulinum*. Ved reell mistanke om *C. botulinum* må det gjøres PCR for botulinumtoksingen, alternativt helgenomsekvensering.

AVGRENSNINGER RELEVANTE PROBLEMSTILLINGER

Innlegget omfatter bruk av MALDI-TOF MS til identifikasjon av anaerobe bakterier, herunder gjennomføring og spesielle forhold knyttet til tolkning som er spesifikke for anaerobe bakterier.

Alternative identifikasjonsmetoder til MALDI-TOF MS beskrives ikke inngående.

Forhold knyttet til håndtering av taksonomiendringer og arter som skilles ut eller endrer navn vil bli tatt opp i et eget foredrag, og bare problemstillinger som er spesifikke for anaerobe bakterier tas opp her.

Anbefalingene knyttet til scoreverdier, antall spot som inokuleres og identifikasjon direkte fra blodkulturflasker må om nødvendig samordnes med tilsvarende anbefalinger for aerobe bakterier.

PROBLEMOMRÅDE 1 – BRUK AV MALDI-TOF TIL RUTINEIDENTIFIKASJON AV ANAEROBER

Medisinsk-mikrobiologiske laboratorier bør kunne identifisere de viktigste gruppene anaerobe bakterier som gir sykdom (1). Anaerobe infeksjoner er ofte polymikrobielle og behandles ofte empirisk. Det blir derfor spesielt viktig å identifisere arter som kan ha uforutsigbart resistensmønster og bør resistensbestemmes (2). Disse sammenfaller i stor grad med artene som har kliniske brytningspunkter fra EUCAST (*Bacteroides* spp., *Prevotella* spp., *Fusobacterium necrophorum*, *Clostridium perfringens*, *Cutibacterium acnes* og *Clostridioides difficile*). Arter med iboende metronidazolresistens, som f.eks. *Actinomyces*,

samt fakultativt anaerobe arter som vokser best anaerobt (f.eks. *Lactobacillus*, *Actinotignum* m.fl.) er også viktige å identifisere ettersom empirisk behandling med metronidazol da ikke vil være egnet. For øvrige anaerober er det også ønskelig med identifikasjon til artsnivå, spesielt ved alvorlige infeksjoner, funn i renkultur eller fra normalt sterile områder eller ved manglende effekt av empirisk behandling (2). Identifikasjon til slektsnivå eller grovidentifikasjon (f.eks. anaerobe gram positive kokker) kan være tilstrekkelig i noen tilfeller.

MALDI-TOF massespektrometri gir generelt en svært god identifikasjon av anaerobe isolater, og er egnet som hovedidentifikasjonsmetode for anaerober i rutinen (3-5). Et alternativ er biokjemiske systemer som f.eks. Vitek, som også fungerer brukbart (6), men MALDI-TOF MS gir vesentlig sikrere identifikasjon til artsnivå av mange arter (7), og det er mer krevende å holde biokjemiske systemer oppdatert med nye arter enn det er med MALDI-TOF MS, slik at de biokjemiske systemene vil ha manglende dekning av nye klinisk relevante anaerober som oppdages (8). I de tilfellene man ikke kommer i mål med MALDI-TOF eller biokjemiske systemer, vil man måtte gjøre en avveining av om det er behov for sikker artsidentifikasjon med sekvensering, eller om det kan gjøres en enkel grovidentifikasjon til slekts-/gruppenivå. Det er gjort studier på både Maldi Biotyper (Bruker) og VITEK MS (BioMérieux). En metaanalyse konkluderte med at begge systemene var likeverdige (5), mens en studie fra 2024 fant at Maldi Biotyper identifiserte en større andel isolater enn VITEK MS, men begge systemene ga tilfredsstillende identifikasjon av de hyppig forekommende artene (4). Ved å øke antall referansespektra i databasen oppnår man større andel vellykket identifiserte isolater (3, 8), og for sjeldent forekommende arter var denne effekten mest uttalt for VITEK MS (9). Bruk av in house databaser med egenproduserte spektra i tillegg til dem fra produsenten gir betydelig bedre identifikasjon av sjelden forekommende arter (8, 10). Dette tyder på at det er kvaliteten på databasen (antall referansespektra) som er begrensende faktor, og at løpende forbedring av databasene vil øke prestasjonen til MALDI-TOF-identifikasjon. Gjennom ENRIA-prosjektet er det gjort et systematisk arbeid for å generere referansespektra for et stort antall anaerobe arter (8, 10).

«On plate» ekstraksjon med 100 % maursyre gir signifikant økt sannsynlighet for sikker artsidentifikasjon, spesielt for gram positive arter (9, 11, 12), og anbefales. Eventuelt kan man avstå fra dette hvis man forventer arter hvor ekstraksjon erfaringsmessig ikke er nødvendig. Fullekstraksjon gir ytterligere noe økt sannsynlighet for sikker identifikasjon, men gevinsten står neppe i forhold til arbeidsmengden (11, 12).

Grenseverdiene for sikker identifikasjon ved bruk av MALDI-TOF MS settes vanligvis til logscore $\geq 2,0$ for identifikasjon til artsnivå og logscore $1,7 - < 2,0$ for identifikasjon til slektsnivå. For anaerobe bakterier har studier vist at å senke kriteriet for identifikasjon til artsnivå til 1,7 (12) eller 1,8 (3, 7) øker andelen identifiserte isolat betraktelig uten å føre til flere feilidentifikasjoner. Laboratoriene kan derfor vurdere å gi ut identifikasjoner med score $\geq 1,8$ til artsnivå, forutsatt at øvrige konsistenskrav er oppfylt.

Hvilket dyrkningsmedium koloniene plukkes fra har ingen nevneverdig betydning (12), heller ikke tiden skålene har vært inkubert (13). Langvarig eksponering for romluft reduserer sannsynligheten for identifikasjon noe, men effekten er mest fremtredende etter flere dager og avhenger av art, hvor gram positive kokker og fusobakterier påvirkes mest (12, 13). Ved vanlig laboratoriepraksis har denne effekten trolig liten betydning.

For arter med små, uregelmessige eller harde kolonier, herunder anaerobe gram positive kokker og fusobakterier, er det større variabilitet i hvilken score som oppnås ved gjentatt inokulering på MALDI-TOF-platen (13). For disse artene kan det være gunstig å inokulere

flere spots (f.eks. to) for å gi større sannsynlighet for at ett av resultatene gir tilfredsstillende score. For hurtigvoksende arter med glatte kolonier er variabiliteten mindre (13), og inokulering av kun én spot kan være tilstrekkelig.

Anaerobe bakterier kan identifiseres med MALDI-TOF direkte fra positive blodkulturflasker (14-16). Dette gir som regel lavere score enn ved identifikasjon fra koloni, og kriteriene for godkjent identifikasjon må derfor justeres. Foreslåtte justeringer er en grense på logscore 1,7 for identifikasjon til artsnivå og 1,4 for slektsnivå (16), eller identifikasjon til artsnivå når de tre beste forslagene er samme art, uavhengig av logscore (15).

PROBLEMOMRÅDE 2 – TAKSONOMISKE FORHOLD I SLEKTEN *BACTEROIDES*

Over de siste tiårene har taksonomien til en del viktige anaerobe slekter blitt revidert på bakgrunn av helgenomdata. For *Bacteroides* ble det gjort en større opprydning i 1989, og slekten *Bacteroides* er nå begrenset til det som omtales som *B. fragilis*-gruppen (17). I nyere tid har også noen arter blitt skilt ut i slekten *Parabacteroides* og *Phocaeicola*, men disse regnes fortsatt å tilhøre *B. fragilis*-gruppen.

Noen arter i *B. fragilis*-gruppen er nært beslektet og kan ikke sikkert skilles med MALDI-TOF. Dette gjelder hovedsakelig *B. thetaiotaomicron* som er nært beslektet med *B. faecis*, samt *B. ovatus* som er nært beslektet med *B. xylanisolvens* (8). Laboratoriene bør være oppmerksom på denne mulige begrensningen og vurdere å slå sammen besvarelsen av disse artsparene. Samtidig må man være forberedt på at forbedringer i databasene kan føre til at disse artene kan skilles bedre i fremtiden. Ved databaseoppdateringer bør man lese leverandørens følgeskriv og vurdere om det kan gjøres endringer i håndteringen av slike «problemarter». Arten *Bacteroides fragilis* er inndelt i to grupper som betegnes divisjon I og divisjon II, der sistnevnte har et kromosomalt karbapenemasegen (*cfiA*) som kan komme til uttrykk i varierende grad, og gi nedsatt følsomhet eller resistens for meropenem og/eller piperacillin-tazobactam. Maldi Biotyper (Bruker) har en tilleggsfunksjon for å skille disse, som krever at man har kjøpt en ekstra subtypingsmodul. I realiteten oppfyller divisjon I og divisjon II kravene til å regnes som forskjellige arter (18). Et forslag om å skille ut divisjon II som en ny art med navnet *B. hominis* er publisert (19, 20), men endringen er ikke gjennomført i praksis. Det å identifisere et isolat som divisjon II kan være nyttig ettersom det kan gi en forklaring på observert nedsatt følsomhet for meropenem og piperacillin-tazobactam, men er ikke strengt nødvendig, da brytningspunktene for resistensbestemmelse er fastsatt etter vanlige prinsipper for kliniske brytningspunkter (21) og S/I/R-kategorisering av *Bacteroides* spp. skal rapporteres som testet uavhengig av artsidentifikasjon eller identifikasjon som divisjon I eller II (22). Laboratoriene bør være oppmerksomme på at *B. fragilis* sannsynligvis kommer til å bli splittet i to arter i en fremtidig oppdatering av databasene.

PROBLEMOMRÅDE 3 – IDENTIFIKASJON AV *CLOSTRIDIUM BOTULINUM*

Fylogien i slekten *Clostridium* er også blitt fortløpende revidert. Et problem som fortsatt gjenstår er at arten *C. botulinum* i realiteten er polyfyletisk, og består av flere metabolske grupper med ulik optimal veksttemperatur, som ideelt sett skulle vært klassifisert som ulike arter (23).

Botulisme er en problemstilling som bare sjelden dukker opp i medisinsk-mikrobiologiske laboratorier, da bakteriologisk dyrkning vanligvis ikke inngår i diagnostikken. Det kan imidlertid forekomme at man får vevsprøver fra pasienter med sårbotulisme, og det vil da være biogruppe I, med optimal veksttemperatur rundt 37 grader, som er mest aktuell (23). Denne er nært beslektet med *C. sporogenes* og kan ikke sikkert skilles med MALDI-TOF.

Artene er også vanskelige å skille med 16S rDNA-sekvensering (24). Maldi Biotyper (Bruker) har en egen database for høypatogene agens (SR-taksonomi), men erfaringsmessig er det til lite hjelp å benytte denne når to arter i hver sin database er nært beslektet, da de ulike databasene gir ulik score-verdi og det derfor er vanskelig å sammenlikne treff fra forskjellige databaser (25). Det er mulig å identifisere *C. botulinum* med MALDI-TOF ved bruk av spesielle statistiske analyser (26, 27), men dette er ikke implementert i databasene for rutinebruk. For sikkert å identifisere *C. botulinum* er man derfor avhengig av å påvise gen for botulinumtoksin med PCR eller helgenomsekvensering. Norges miljø- og biovitenskapelige universitet (NMBU) ved Mattrygghetslab er referanselaboratorium for botulinumtoksin, og kan ta imot isolater for PCR dersom laboratoriene ikke har dette tilgjengelig selv (Marina Aspholm, personlig meddelelse). Innsending av isolat bør avtales på forhånd med NMBU i hvert tilfelle.

Da også andre *Clostridium*-arter som f.eks. *C. baratii*, *C. buryticum*, *C. argentinense* og *C. subterminale* også kan ha gener for botulinumtoksin (28, 29), bør man ved reell klinisk mistanke om sårbotulisme vurdere også å utføre PCR-undersøkelse på andre *Clostridium*-arter.

C. sporogenes og de andre nevnte *Clostridium* er vanlig forekommende i miljøet og påvises minst like ofte i mikrobiologiske prøver som *C. botulinum*. Det er derfor mest hensiktsmessig at isolat bare sendes til undersøkelse for botulinumtoksiner i de tilfellene hvor man har en reell klinisk mistanke om botulisme.

REFERANSER

1. Nagy E, Boyanova L, Justesen US. How to isolate, identify and determine antimicrobial susceptibility of anaerobic bacteria in routine laboratories. Clin Microbiol Infect. 2018;24(11):1139-48.
2. Gajdacs M, Spengler G, Urbán E. Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria: Rubik's Cube of Clinical Microbiology? Antibiotics (Basel). 2017 Nov 7;6(4):25. doi: 10.3390/antibiotics6040025.
3. Alcalá L, Marín M, Ruiz A, Quiroga L, Zamora-Cintas M, Fernández-Chico MA, et al. Identifying Anaerobic Bacteria Using MALDI-TOF Mass Spectrometry: A Four-Year Experience. Front Cell Infect Microbiol. 2021;11:521014.
4. Litterio M, Castello L, Venuta ME, Abel S, Fernández-Canigia L, Legaria MC, et al. Comparison of two MALDI-TOF MS systems for the identification of clinically relevant anaerobic bacteria in Argentina. Rev Argent Microbiol. 2024;56(1):33-61.
5. Li Y, Shan M, Zhu Z, Mao X, Yan M, Chen Y, et al. Application of MALDI-TOF MS to rapid identification of anaerobic bacteria. BMC Infect Dis. 2019;19(1):941.
6. Lee EHL, Degener JE, Welling GW, Veloo ACM. Evaluation of the Vitek 2 ANC card for identification of clinical isolates of anaerobic bacteria. J Clin Microbiol. 2011;49(5):1745-9.
7. Rodriguez-Sanchez B, Alcalá L, Marín M, Ruiz A, Alonso E, Bouza E. Evaluation of MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry) for routine identification of anaerobic bacteria. Anaerobe. 2016 Dec;42:101-107.
8. Veloo ACM, Jean-Pierre H, Justesen US, Morris T, Urban E, Wybo I, et al. Validation of MALDI-TOF MS Biotyper database optimized for anaerobic bacteria: The ENRIA project. Anaerobe. 2018;54:224-30.
9. Ferrand J, Bonnet I, Alauzet C, Lozniewski A. Evaluation of the Vitek MS and the MALDI Biotyper systems for the identification of less commonly isolated but clinically

relevant anaerobes and facultative anaerobes. *Anaerobe*. 2018 Dec;54:210-216.

10. Boiten K. The European network for the rapid identification of anaerobes part two: continuing the optimisation of the MALDI-TOF MS database. Muntlig presentasjon på ESCMID Global 2024. Del av: Reinventing MALDI-TOF applications in clinical microbiology (O0949).
11. Bächli P, Baars S, Simmler A, Zbinden R, Schulthess B. Impact of MALDI-TOF MS identification on anaerobic species and genus diversity in routine diagnostics. *Anaerobe*. 2022;75:102554. doi: 10.1016/j.anaerobe.2022.102554.
12. Hsu YMS, Burnham CAD. MALDI-TOF MS identification of anaerobic bacteria: assessment of pre-analytical variables and specimen preparation techniques. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2014;79:144-8.
13. Veloo ACM, Elgersma PE, Friedrich AW, Nagy E, van Winkelhoff AJ. The influence of incubation time, sample preparation and exposure to oxygen on the quality of the MALDI-TOF MS spectrum of anaerobic bacteria. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20(12):O1091-7.
14. Yuan Y, Wang J, Zhang J, Ma B, Gao S, Li Y, et al. Evaluation of an optimized method to directly identify bacteria from positive blood cultures using MALDI-TOF mass spectrometry. *J Clin Lab Anal*. 2020;34(4):e23119. doi: 10.1002/jcla.23119.
15. Meex C, Neuville F, Descy J, Huynen P, Hayette MP, De Mol P, et al. Direct identification of bacteria from BacT/ALERT anaerobic positive blood cultures by MALDI-TOF MS: MALDI Sepsityper kit versus an in-house saponin method for bacterial extraction. *J Med Microbiol*. 2012;61(Pt 11):1511-1516.
16. Almuhayawi M, Altun O, Abdulmajeed AD, Ullberg M, Özenci V. The Performance of the Four Anaerobic Blood Culture Bottles BacT/ALERT-FN, -FN Plus, BACTEC-Plus and -Lytic in Detection of Anaerobic Bacteria and Identification by Direct MALDI-TOF MS. *PLoS One*. 2015; 10: e0142398. doi: 10.1371/journal.pone.0142398.
17. Shah HN, Collins MD. Proposal To Restrict the Genus *Bacteroides* (Castellani and Chalmers) to *Bacteroides fragilis* and Closely Related Species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 1989;39(1):85-7.
18. Wallace MJ, Jean S, Wallace MA, Burnham CD, Dantas G. Comparative Genomics of *Bacteroides fragilis* Group Isolates Reveals Species-Dependent Resistance Mechanisms and Validates Clinical Tools for Resistance Prediction. *mBio*. 2022;13(1):e0360321.
19. Liu C, Du MX, Abuduaini R, Yu HY, Li DH, Wang YJ, et al. Enlightening the taxonomy darkness of human gut microbiomes with a cultured biobank. *Microbiome*. 2021;9(1):119.
20. Oren A, Garrity G. Valid publication of new names and new combinations effectively published outside the IJSEM. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2022;72(5).
21. Bavelaar H, Justesen US, Morris TE, Anderson B, Copsey-Mawer S, Stubhaug TT, et al. Development of a EUCAST disk diffusion method for the susceptibility testing of rapidly growing anaerobic bacteria using Fastidious Anaerobe Agar (FAA): a development study using *Bacteroides* species. *Clin Microbiol Infect*. 2021;27(11):1695.e1-e6.
22. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 14.0. Tilgjengelig fra: https://www.eucast.org/clinical_breakpoints
23. Collins MD, East AK. Phylogeny and taxonomy of the food-borne pathogen *Clostridium botulinum* and its neurotoxins. *J Appl Microbiol*. 1998;84(1):5-17.
24. Weigand MR, Pena-Gonzalez A, Shirey TB, Broeker RG, Ishaq MK, Konstantinidis KT, Raphael BH. Implications of Genome-Based Discrimination between *Clostridium botulinum*

Group I and *Clostridium sporogenes* Strains for Bacterial Taxonomy. *Appl Environ Microbiol.* 2015;81(16):5420-9

25. Stubhaug TT. Et tilfelle av spedbarnsbotulisme sett fra primærlaboratoriet. Muntlig innlegg på Årskonferansen 2016 (Folkehelseinstituttet).

26. Weigand MR, Pena-Gonzalez A, Shirey TB, Broeker RG, Ishaq MK, Konstantinidis KT, et al. Implications of Genome-Based Discrimination between *Clostridium botulinum* Group I and *Clostridium sporogenes* Strains for Bacterial Taxonomy. *Appl Environ Microbiol.* 2015;81(16):5420-9.

27. Schaumann R, Dallacker-Losensky K, Rosenkranz C, Genzel GH, Stîngu CS, Schellenberger W, et al. Discrimination of Human Pathogen *Clostridium* Species Especially of the Heterogeneous *C. sporogenes* and *C. botulinum* by MALDI-TOF Mass Spectrometry. *Curr Microbiol.* 2018;75(11):1506-15.

28. Horowitz BZ. Botulinum toxin. *Crit Care Clin.* 2005;21(4):825-39, viii.

29. Cook PA, Mishler A, Quan D, Parrish-Garcia A. Wound botulism caused by *Clostridium subterminale* after a heroin injection. *Infect Dis Rep.* 2018;10(2):7654.

Identifikasjon av muggsopp med Maldi-TOF MS

Forfatter: Kjersti Wik Larssen (St.Olav)/ Ida Sletteberg (Molde)

FORSLAG TIL ANBEFALINGER (RØD SKRIFT = TIL DISKUSJON KONTROVERSIELLE)

ANBEFALING 1 NÅR SKAL MALDI-TOF MS BENYTTES TIL MUGGSOPPIDENTIFIKASJON?

- Muggsopp fra alvorlig/ komplisert infeksjon som krever systemisk antimykotika identifiseres med Maldi-TOF MS og morfologisk metode
- Riktig anvendt Maldi-TOF MS gir raskere og mer korrekt identifikasjon enn konvensjonelle fenotypiske metoder.
- **Alle laboratorier bør forsøke identifikasjon med Maldi-TOF MS før videresending til referanselab.**

ANBEFALING 2 VALG AV MEDIE FOR IDENTIFIKASJON

- Sabauraud glukose agar med kloramfenikol og gentamicin er stort sett godt egnet for identifikasjon.
- **ID-Fungiplates unngår forurensing med agar, og kan vurderes som et supplement i utvalgte tilfeller.**

ANBEFALING 3 VALG AV EKSTRAKSJONSMETODE OG PLATE

- Generelt: Følg leverandørs anbefalinger. Unngå å få med agar når det plukkes fra kolonier.
- Full ekstraksjon er vist å gi best spektra på tvers av ulike databaser, er dokumentert å drepe sopp og er anbefalt metode ved bruk av MSI og MicrobeNet databaser.
- **Extended direct transfer (eDT) med bruk av maursyre kan gi gode spektra, særlig ved bruk av ID-Fungal plates. Sparer arbeid og tid. Publiserte data for hvor godt ulike sopp drepes er mangelfull. Dersom ekstraksjon uten etanol benyttes, bør laboratoriet gjøre sin egen risikovurdering.**
- Engangsplate er å foretrekke for å unngå kontaminasjon.
- **Bruk alltid minst to spot. Flere studier anbefaler 3 eller 4 spot.**

ANBEFALING 4 VALG AV DATABASE, KRITERIE FOR IDENTIFIKASJON OG SUPPLERENDE TESTING

- Benytt både kommersiell og online offentlig database dersom mulig. Sammenfallende resultat mellom databaser styrker sikkerhet til identifikasjonen.
- Følg med på oppdateringer i databasen i lys av endringer i taksonomi
- MSI databasen anbefales. Den inneholder flest species, mange MSP per species og oppdateres jevnlig.
- Der Maldi-TOF MS ikke skiller godt mellom ulike species i henhold til leverandørs anbefalinger, besvares prøven på genus eller species kompleks nivå med mindre alternativ test gir avklaring.
- Stammer fra alvorlige infeksjoner sendes alltid til referanselab for identifikasjon/konfirmasjon.

AVGRENSNING/ RELEVANTE PROBLEMSTILLINGER

Rask og pålitelig identifikasjon av muggsopp er viktig for å kunne starte med korrekt behandling tidlig (1, 2). Tradisjonelt har dette basert seg på fenotypiske og biokjemiske karakteristika, som er uendret og ikke vil omtales videre her, se [Microsoft Word - Strategirapport nr 27 \(2013\) Soppinfeksjoner.docx \(fhi.no\)](#). Dette bør opprettholdes, og er i noen sammenhenger tilstrekkelig alene (3). Ved alvorlige infeksjoner bør identifikasjon med Maldi-TOF MS alltid utføres, og vurderes samlet med fenotypiske metoder. Anvendelse av Maldi-TOF MS for identifikasjon av muggsopp har vært begrenset av mangelfulle databaser og inkonsistens i dyrkningsmetoder og ekstraksjon (1, 2, 4). De senere årene har bruken økt i takt med bedre databaser. Styrker og begrensinger vil omtales, med fokus på systemer som brukes i Norge i dag (Bruker Daltonics MS og Vitek MS).

Identifikasjon med MALDI-TOF MS

Maldi-TOF MS er et raskt, rimelig og nyttig verktøy som kan benyttes før morfologisk identifikasjon er mulig, ved sterile hyfer og som kan skille mellom arter som er fenotypisk like. Implementering av Maldi-TOF MS gir økt grad av speciesidentifikasjon, raskere svar og færre feilidentifikasjoner enn tradisjonelle metoder (3, 5, 6). Rask og korrekt identifikasjon bidrar til riktig behandling, og er særlig viktig for såkalte *kryptiske arter** som ikke lar seg skille morfologisk fra andre arter i samme species complex, men som har ulik iboende følsomhet for antimykotika (1-3, 5, 7-10). *Kryptiske arter* forekommer hyppigere enn tidligere antatt, og utgjorde 17-48% av påviste *Aspergillus species* en multisenter studie (8).

Sammenlikning av studier er vanskelig fordi ulike instrumenter, programvare – versjon, bibliotek, dyrkningsmedier, ekstraksjonsmetoder og type target plates har vært benyttet. I tillegg påvirker ulike valg av species inkludert i studiene i stor grad resultatene (11). Én anbefalt, standardisert og felles protokoll for valg av medier, høsting fra koloni og ekstraksjon på tvers av instrument mangler (12). Studier har observert variasjon mellom lab i oppnådd identifikasjon på stammer undersøkt med samme metode og på samme type instrument, men på ulike laboratorier. Man antar at dette kan skyldes både instrumentforskjeller (Tid siden service, alder på instrument/laser, justeringer i programvare) og/eller forskjeller i teknisk ferdighet med hensyn til høsting fra kolonier/ekstraksjon og deponering på plate. Flere studier har vist mindre forskjeller mellom laboratorier ved bruk av VitekMS versus bruk av Bruker Daltonics MS (1-3, 13, 14).

Maldi-TOF MS bør benyttes i identifikasjon ved alle infeksjoner som krever systemisk antimykotika. Dersom laboratoriet mangler Maldi- TOF MS/ utstyret er ute av drift, kan ekstraksjon og deponering på target plate før videresending til samarbeidende laboratorium være en løsning (3, 9).

Valg av dyrkningsmedie og inkubasjonstid

Dyrkningsmedie (Sabouraud (SAB) med eller uten antibiotika, Potet dekstrose agar, Mycosel) er vist å kunne ha innvirkning på resultat (12, 15). Flere studier peker på ID-Fungi plates (IDFP, Conidia Coniphy, Quincieux, France) som egnet for identifikasjon (7, 12, 16). IDFP inneholder en membran som unngår kontaminasjon med agar, og man oppnår ofte renere spektra. Uselektiv SAB agar er vist å gi dårligere spektra enn selektiv SAB agar med kloramfenikol og gentamicin og IDFP (12). Siden IDFP koster betydelig mer, kan de forbeholdes til subkultur og situasjoner med vanskelig identifikasjon (7, 16, 17). IDFP har særlig en fordel dersom ikke full ekstraksjon benyttes.

Inkubasjonstid påvirker resultat av Maldi-TOF analyse. Generelt er det anbefalt å plukke fra unge kolonier, ofte 48-72 timers dyrkningstid, men også ned i 24 har vist å gi gode resultat (7, 15). Ved manglende identifikasjon eller lav score kan nytt forsøk fra kultur som har vært dyrket videre i 1-2 dager være nyttig (3, 5).

Valg av ekstraksjonsmetode og target plate

Ekstraksjonsmetodene bør følge leverandørs anbefalinger da volum, mengde og type matrix brukt, samt hvordan det er høstet fra koloniene varierer noe mellom de ulike leverandørene/databasene. Mens bruker anbefaler høsting av mycel (via flytende kultur eller frontmycel uten kontaminasjon med agar) er Vitek MS ekstraksjon basert på proteinekstraksjon fra conidier dyrket på faste medier. Full ekstraksjon fremholdes som den metoden som erfaringsmessig gir best spektra, og er per i dag anbefalt metodikk ved bruk av tilgjengelige offentlige online databaser (1, 2, 11, 14, 18, 19). Ekstraksjon for muggsopp kan deles i to hovedtyper, der litt ulike varianter av disse med blant annet knusing med beads er beskrevet.

1. Full ekstraksjon (FE) med etanol, maursyre (formic acid) og acetonitril.
2. Extended Direct Transfer (eDT) med maursyre (formic acid) som tilsettes før matrix.

Hvis ekstraksjonsprotokollen man benytter avviker fra den som er brukt for å bygge referansebiblioteket, kan ulike spektra oppnås, og man identifiserer kanskje ikke soppen eller får feil identifikasjon (1).

Biotrygghet med direkte metoder versus full ekstraksjon er lite omtalt i publisert litteratur (3, 18). Per nå fins kun begrenset dokumentasjon på at raskere ekstraksjonsprotokoller uten etanol dreper muggsopp (20). Inntil mer data fins anbefales det inntil videre å bruke FE, som er dokumentert at dreper sopp (18). Vitek har et statement dokument som sier at deres ekstraksjonsmetode, som inkluderer et etanoltrinn, inaktiverer muggsopp inklusive et utvalg BSL3 sopp. Bruker omtaler foreløpig ikke dette i veiledning til sine bibliotek, og anbefaler at alle laboratorier gjør sin egen risikovurdering ved bruk av eDT metodikk (personlig meddelelse på forespørsel til firma).

Antall spot som deponeres på platene er av betydning for identifikasjon. Det anbefales at minst to spot deponeres, gjerne 3-4 (3, 7, 21). For valg av plate anbefales å følge leverandørs anbefalinger for muggsoppidentifikasjon. Engangsplater (biotarget) er ofte å foretrekke for å minske kontaminasjonsfaren.

Valg av database

Både Bruker Filamentous Fungi (BFF) og Vitek MS kunnskapsbase (VKB) gir god diagnostikk på medisinsk vanlige muggsopp. Den største begrensningen ligger i antall species i databasene og antall MSP per species. I tillegg vil

mangel av tilgjengelige spektra fra «*cryptic species*» kunne medføre feilidentifikasjon med konsekvenser for terapivalg (7, 10, 22). Av offentlig databaser er [Mass Spectrometry Identification platform \(MSI\)](#) er den første lett tilgjengelige online databasen for identifikasjon av sopp (14). Per i dag inneholder denne langt flere arter og masse spektra profiler (MSP) enn noen annen kommersiell eller offentlig database. MSI 2.0 er betydelig forbedret mht identifikasjon av *Aspergillus spp*, *Fusarium spp* og dermatofytter sammenliknet med MSI 1.0 (7, 17, 23). Den fungerer også godt også i prøver fra dyr og miljø, som kan være en fordel ved zoonoser eller i utbruddsoppløring (24). MSI databasen er basert på godt karakteriserte isolater og oppdateres regelmessig (1, 2, 17, 24). [MicrobeNet](#) er et samarbeid mellom CDC, Bruker og enkelte andre referanselaboratoriers databaser. Per i dag ser det ikke ut til at den har noen fordel i antall muggsopparter versus MSI, og det har ikke lyktes å finne publikasjoner på bruk av denne databasen for muggsoppidentifikasjon. I tillegg fins [NIH databasen](#) (18), men bruk kompliseres av behov for material transfer agreements (24).

MSI bibliotek er bygd fra subkultur av referansestammer på SAB med gentamycin og kloramfenikol (14, 15). VKB er også bygd fra dyrkning på faste medier, mens BFF er basert på kultur i flytende medie (2, 3). Dyrkning i flytende medie er tungvint, og sjelden nødvendig hvis full ekstraksjon og MSI database benyttes. En sammenliknende studie fra 2019 fant at VKB identifiserte 52% av stammene til speciesnivå, BFF 17- 43% (avhengig av terskelverdi) og BFF + MSI 92% (25). MSI 2.0 har gjort betydelig arbeid i å legge til mange spektra for flere arter og i ulike vekstfase, og det er tvilsomt om kommersielle leverandører vil gjøre tilsvarende for å forbedre soppdatabasene sine (9), noe antall species og referansespektra/masse spektra profiler (MSP) i ulike versjoner av databasene kan tyde på (Tabell 1). Å ha spektra fra flere stammer, stammer i ulike vekstfase og dyrket ved ulike vekstbetingelser fra en species har vist seg å være viktig for god identifikasjon (15, 25), og er viktigere for sopp enn for bakterier når man lager bibliotek (3). Ofte oppnås dårligere identifikasjon dersom databasen bare bygger på ett isolat per species og en subkultur per isolat (15). Både MSI og VKB har som fordel at de har spekter fra flere stammer per species inne og høyere antall MSP per species enn BFF. Bruker Daltonics MS kommer i flere studier dårligere ut enn Vitek MS, men dette kan skyldes at svært få studier har benyttet dyrkning i flytende medium (18). En annen begrensende faktor kan være dårlig tilgang på godt karakteriserte stammer fra enkelte species på referanselaboratorier (15), men gevinsten i flere referansespektra fra samme stamme vil også her øke sannsynlighet for god identifikasjon. Ulike bibliotek for identifikasjon er utformet og validert for spesifikke instrument, som Bruker K Microflex eller bioMérieux VITEK MS. Det har vært sagt at genererte spektra ikke kan brukes på tvers av plattformer (3, 7), men nyere data viser at også Vitek MS spektra muligens kan benyttes i den Bruker genererte MSI2.0 databasen med gode resultat (Dutkiewicz M, ECCMID 2024; O0950). Å kombinere ulike databaser, der MSI 2.0 inkorporeres i prøveflyten, vil gi best identifikasjonsrate av muggsopp siden databasene dels er komplementære. Feilidentifikasjoner er mulig med alle databaser/plattformer, og alle laboratorier må kjenne begrensninger med egne instrument og databaser, samt følge med på endringer i taksonomi og nomenklatur (3, 17, 24). Ved bruk av MSI databasen bør personvern/datasikkerhet ivaretas ved ikke å legge inn prøvenummer/pasient ID før generering eller overføring av spektra.

Kriterier for identifikasjon

Databasleverandøren sin anbefaling bør i hovedsak følges. Imidlertid har studier vist at å senke score til 1.7 for Brukers database kan gi god ID uten at det øker antall feilidentifikasjoner (1, 3, 22). For MSI anbefales å følge anbefalingene fra leverandør, som benytter ulike score verdier og differanse i score mellom første og neste isolat for å kunne besvare på species eller species complex nivå (7). For Vitek MS anbefales også å følge leverandørs anbefalinger, med score > 99.0% som anbefalt godkjenning til speciesnivå med høy konfidens og > 60% for identifikasjon med lav konfidens (19).

Ved manglende identifikasjon kan videre dyrkning og gjentatt forsøk, evt subkultur på ID fungal plates bidra til å gi bedre spektra (7, 16).

Kontrollrutiner før besvaring

Resultat fra morfologi, massespektrometri og eventuelle supplerende tester gjennomgås før endelig besvaring til species eller genus nivå. Usikkerhet bør formidles til kliniker, særlig i tilfeller der det kan ha konsekvenser for valg av antimykotisk terapi (arter med iboende resistens mot ett eller flere antimykotika). Invasive isolat bør sendes referanselab for konfirmasjon. Funn må alltid vurderes i lys av klinikk og eventuelle disponerende forhold ([Microsoft Word - Strategirapport nr 27 \(2013\) Soppinfeksjoner.docx \(fhi.no\)](#)). Ved tvil om klinisk relevans bør en kommentar følge svaret eller formidles muntlig til rekvirent.

Besvaring

Molekylære metoder har medført store endringer for sopp taksonomi, begrunnet i jevnlig rapporter (26). Sopp man tidligere antok tilhørte samme species viser seg å være ulike species, og sopp som har vært klassifisert i samme genus tilhører nå ulike genus basert på molekylær fylogeni. Fortsatt gjenstår avklaringer for flere arter av medisinsk betydning. Justeringer i årene som kommer må påregnes.

Dobbel nomenklatur, der anamorf og teleomorf av samme sopp har hatt ulike navn, har vært forkastet siden 2011 (one fungus one name) (26), men gamle navn er godt innarbeidet og/eller benyttes fortsatt i lærebøker, retningslinjer og databaser. Det samme isolatet kan derfor bli identifisert med ulikt navn avhengig av metode/database, noe som kompliserer laboratorienes svarrutiner. Oppdatert sopptaksonomi fins på [Mycobank](#) og på [Index Fungorum - Search Page](#), men disse gir ikke anbefalinger om besvaring eller nytten av endringene. Det jobbes med en løsning for ett nettsted med anbefalte navn for medisinsk viktige sopp og hvordan disse skal besvares. En internasjonal konsensus, der mye fortsatt er valgfritt, kom i 2023 og laboratoriene bør følge denne og fremtidige oppdateringer (27).

Eksempler:

- *Magnusiomyces capitatus* (tidligere kjent som *Geotrichum capitatum*)
- *Lomentospora prolificans* (tidligere kjent som *Scedosporium prolificans*)
- *Nanizzia gypsea* (tidligere kjent som *Microsporum gypseum*)

Anbefalte ringtester og validering

VKB er FDA og IVD godkjent. BFF har inntil nylig kun vært RUO, men de har nå lansert et IVD BFF bibliotek som anbefaler en variant av eDT der frontmycel høstes fra IDFP (MyT metoden). Selve databasen er basert på RUO databasen med spektra generert fra flytende kultur (personlig meddelelse). Per i dag fins ingen publikasjoner med gevinster av denne databasen /metoden opp mot andre. Begrensninger i antall arter og antall MSP per species vil derfor være som tidligere.

En validering av det enorme antall arter i offentlige RUO databaser er ikke realistisk å få til, men alle laboratorier bør gjøre en egen begrenset validering på de vanligst forekommende medisinske muggsopp opp mot den/ de databasene de benytter. Dersom mulig bør valideringen også inkludere *kryptiske arter** av medisinsk betydning, som *A.lentulus*, *A.thermomutatus*, *A.calidoustus*, *A.pseudodeflectus* og *A.tubingensis*. MSI databasen krever at nye brukere logger inn med en brukerprofil, og før bruk vil et sett spektra produsert av brukeren vurderes av MSI for å sikre samsvar med anbefalt ekstraksjon. NEQAS har EQA for mycology, med god mulighet for å trene på dyrkning og identifikasjon av muggsopp og dermatofytter.

PROBLEMOMRÅDER

- Bør alle laboratorier forsøke identifikasjon av muggsopp med Maldi –TOF MS på klinisk viktige prøver i påvente av svar fra referanselab, også de med begrenset erfaring i muggsoppdiagnostikk? Variasjon i teknisk ferdighet/trening versus gevinst av hurtigere svar.
- Bruk av eDT er tidsbesparende og kan gi gode spektra, særlig ved bruk av IDFP. Det fins lite publisert dokumentasjon på biotrygghet i lab ved bruk av eDT.
- Begrensninger i ulike databaser. Vær klar over hvilke arter som ikke sikkert kan skilles fra andre arter med egen metode/ bibliotekversjon, og kommuniser et svar i tråd med dette. Morfologisk identifikasjon kan i enkelte tilfeller være avklarende, men ofte ikke. For alvorlige infeksjoner bør kommersielle bibliotek suppleres med online bibliotek (MSI fortrinnsvis) for bedre identifikasjon av uvanlige arter og kryptiske arter da dette kan ha behandlingsmessig konsekvens.
- Databasen er ikke nødvendigvis oppdatert i henhold til taksonomiske endringer og/eller nomenklatur (sjekk før besvaring). Kan medføre «feilidentifikasjon».
- Det er ingen internasjonal konsensus om valg av dyrknings-medium og ekstraksjon før identifikasjon.

**Kryptiske arter:* Art som tilhører samme seksjon eller species complex. Lar seg ikke skille fra hverandre med morfologiske metoder (makroskopisk og mikroskopisk), men er ulike ved hjelp av sekvensering av ITS og/eller supplerende gener (betatubulin, calmodulin). Iboende resistens kan være ulik innad i et species complex, og korrekt identifikasjon av kryptiske arter er derfor av klinisk betydning. Eksempelvis er både *Aspergillus lentulus* og *Aspergillus thermomutatus* som begge tilhører seksjon *Fumigati* (= *A.fumigatus* species complex) resistente mot Voriconazol, til forskjell fra villtype *A.fumigatus*.

REFERANSER

1. Wilkendorf LS, Bowles E, Buil JB, van der Lee HAL, Posteraro B, Sanguinetti M, et al. Update on Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry Identification of Filamentous Fungi. *J Clin Microbiol*. 2020;58(12).
2. Lau AF. Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight for Fungal Identification. *Clin Lab Med*. 2021;41(2):267-83.
3. Stein M, Tran V, Nichol KA, Lagace-Wiens P, Pieroni P, Adam HJ, et al. Evaluation of three MALDI-TOF mass spectrometry libraries for the identification of filamentous fungi in three clinical microbiology laboratories in Manitoba, Canada. *Mycoses*. 2018;61(10):743-53.
4. Patel R. A Moldy Application of MALDI: MALDI-ToF Mass Spectrometry for Fungal Identification. *J Fungi (Basel)*. 2019;5(1).
5. Gautier M, Ranque S, Normand AC, Becker P, Packeu A, Cassagne C, et al. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry: revolutionizing clinical laboratory diagnosis of mould infections. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20(12):1366-71.
6. Ranque S, Normand AC, Cassagne C, Murat JB, Bourgeois N, Dalle F, et al. MALDI-TOF mass spectrometry identification of filamentous fungi in the clinical laboratory. *Mycoses*. 2014;57(3):135-40.
7. Barker KR, Kus JV, Normand AC, Gharabaghi F, McTaggart L, Rotstein C, et al. A Practical Workflow for the Identification of *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucorales* by MALDI-TOF MS: Database, Medium, and Incubation Optimization. *J Clin Microbiol*. 2022;60(12):e0103222.
8. Imbert S, Normand AC, Gabriel F, Cassaing S, Bonnal C, Costa D, et al. Multi-centric evaluation of the online MSI platform for the identification of cryptic and rare species of *Aspergillus* by MALDI-TOF. *Med Mycol*. 2019;57(8):962-8.
9. Gautier M, Normand AC, Ranque S. Previously unknown species of *Aspergillus*. *Clin Microbiol Infect*. 2016;22(8):662-9.
10. Imbert S, Cassaing S, Bonnal C, Normand AC, Gabriel F, Costa D, et al. Invasive aspergillosis due to *Aspergillus* cryptic species: A prospective multicentre study. *Mycoses*. 2021;64(11):1346-53.
11. Choi Y, Kim D, Choe KW, Lee H, Kim JS, Ahn JY, et al. Performance Evaluation of Bruker Biotyper, ASTA MicroIDSys, and VITEK-MS and Three Extraction Methods for Filamentous Fungal Identification in Clinical Laboratories. *J Clin Microbiol*. 2022;60(11):e0081222.
12. Jeraldine VM, Wim L, Ellen VE. A comparative study for optimization of MALDI-TOF MS identification of filamentous fungi. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* : official publication of the European Society of Clinical Microbiology. 2023;42(10):1153-61.
13. Lau AF, Walchak RC, Miller HB, Slechta ES, Kamboj K, Riebe K, et al. Multicenter Study Demonstrates Standardization Requirements for Mold Identification by MALDI-TOF MS. *Front Microbiol*. 2019;10:2098.
14. Normand AC, Becker P, Gabriel F, Cassagne C, Accoceberry I, Gari-Toussaint M, et al. Validation of a New Web Application for Identification of Fungi by Use of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry. *J Clin Microbiol*. 2017;55(9):2661-70.
15. Normand AC, Cassagne C, Ranque S, L'Ollivier C, Fourquet P, Roesems S, et al. Assessment of various parameters to improve MALDI-TOF MS reference spectra libraries constructed for the routine identification of filamentous fungi. *BMC Microbiol*. 2013;13:76.
16. Robert MG, Romero C, Dard C, Garnaoud C, Cognet O, Girard T, et al. Evaluation of ID Fungi Plates Medium for Identification of Molds by MALDI Biotyper. *J Clin Microbiol*. 2020;58(5).
17. Robert MG, Cornet M, Hennebique A, Rasamoelina T, Caspar Y, Ponderand L, et al. MALDI-TOF MS in a Medical Mycology Laboratory: On Stage and Backstage. *Microorganisms*. 2021;9(6).
18. Lau AF, Drake SK, Calhoun LB, Henderson CM, Zelazny AM. Development of a clinically comprehensive database and a simple procedure for identification of molds from solid media by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol*. 2013;51(3):828-34.

19. Sun Y, Guo J, Chen R, Hu L, Xia Q, Wu W, et al. Multicenter evaluation of three different MALDI-TOF MS systems for identification of clinically relevant filamentous fungi. *Med Mycol*. 2021;59(1):81-6.
20. Luethy PM, Zelazny AM. Rapid one-step extraction method for the identification of molds using MALDI-TOF MS. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2018;91(2):130-5.
21. Cassagne C, Ranque S, Normand AC, Fourquet P, Thiebault S, Planard C, et al. Mould routine identification in the clinical laboratory by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *PLoS One*. 2011;6(12):e28425.
22. Normand AC, Cassagne C, Gautier M, Becker P, Ranque S, Hendrickx M, et al. Decision criteria for MALDI-TOF MS-based identification of filamentous fungi using commercial and in-house reference databases. *BMC Microbiol*. 2017;17(1):25.
23. Normand AC, Blaize M, Imbert S, Packeu A, Becker P, Fekkar A, et al. Identification of Molds with Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry: Performance of the Newly Developed MSI-2 Application in Comparison with the Bruker Filamentous Fungi Database and MSI-1. *J Clin Microbiol*. 2021;59(10):e0129921.
24. Trivitt GE, Lau AF. Performance of the MSI-2 Database for Fungal Identification by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry from Cleanroom Environments. *J Clin Microbiol*. 2023;61(3):e0135322.
25. Dupont D, Normand AC, Persat F, Hendrickx M, Piarroux R, Wallon M. Comparison of matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) systems for the identification of moulds in the routine microbiology laboratory. *Clin Microbiol Infect*. 2019;25(7):892-7.
26. Borman AM, Johnson EM. Changes in fungal taxonomy: mycological rationale and clinical implications. *Clin Microbiol Rev*. 2023;36(4):e0009922.
27. de Hoog S, Walsh TJ, Ahmed SA, Alastruey-Izquierdo A, Alexander BD, Arendrup MC, et al. A conceptual framework for nomenclatural stability and validity of medically important fungi: a proposed global consensus guideline for fungal name changes supported by ABP, ASM, CLSI, ECMM, ESCMID-EFISG, EUCAST-AFST, FDLC, IDSA, ISHAM, MMSA, and MSGERC. *J Clin Microbiol*. 2023;61(11):e0087323.

Vedlegg: Tabell 1.

Tabell 1. Antall arter i ulike Maldi-TOF sopp databaser

Bibliotek (ref)	År	Antall species/ complex	Antall genus	Antall main spectra (MSP)/references	Kommentar
MBT Fil. fungi IVD	2022	222			Spektra generert med MSI (modifisert MSI) Anbefaler ID fungi plates, hurtigtørking og biotarget plate Inneholder ikke BSL3 sopp, men egen ekstraksjon for <i>Coccidioides immitis</i> fins.
MBT Fil. fungi 4.0 RUO	2021	247 (+27 genus)	73	856	Spektra generert fra subkultur i flytende medie. Research use only
MBT Fil. fungi 3.0 RUO	2019	180 (+10 genus)	62	577	Inneholder ingen BSL3 muggsopp
MBT Fil. fungi 2.0 RUO		152			
MBT Fil. fungi 1.0 RUO	2012	127			
Xitek MS KB 3.3 CE/IVD	2023	327			Mugg (222) og gjærsopp (102)
Xitek MS KB 3.2 CE/IVD	2018	221			Mugg (106) og gjærsopp (101) (gjennomsnitt 9 stammer per species og 39 spektra per species)
Xitek MS KB 3.0 CE/IVD	2016	164			Mugg og gjærsopp. Inneholder flere BSL3-sopp
Xitek MS KB 2.0 CE/IVD	2012	110			Spektra generert fra faste medier. Full ekstraksjon anbefalt
Xitek MS KB 1.1	2011	78			
MSI 2.0	Feb 2024	1663	432	16997	Mugg og gjærsopp
MSI 2.0 (1) oppdatering	2022	1581		16442	Inneholder flere BSL3 sopp
MSI 2.0 (2)	2019	1301	358	9969	Offentlig, kurert, gratis, krever innlogging
MSI 1.0 (3)	2017	938 (1913 strains)	246	11851	Oppdateres regelmessig Full ekstraksjon anbefalt
NIH database (4)	2013	152 (294 strains)	76		Full ekstraksjon anbefalt

Referanser:

1. Normand AC, Moreno-Sabater A, Jabet A, Hamane S, Cremer G, Foulet F, et al. MALDI-TOF Mass Spectrometry Online Identification of Trichophyton indotineae Using the MSI-2 Application. J Fungi (Basel). 2022;8(10).
2. Normand AC, Blaize M, Imbert S, Packeu A, Becker P, Fekkar A, et al. Identification of Molds with Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry: Performance of the Newly Developed MSI-2 Application in Comparison with the Bruker Filamentous Fungi Database and MSI-1. J Clin Microbiol. 2021;59(10):e0129921.
3. Normand AC, Becker P, Cassagne C, Accoceberry I, Gari-Toussaint M, et al. Validation of a New Web Application for Identification of Fungi by Use of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry. J Clin Microbiol. 2017;55(9):2661-70.
4. Lau AF, Drake SK, Calhoun LB, Henderson CM, Zelazny AM. Development of a clinically comprehensive database and a simple procedure for identification of molds from solid media by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. J Clin Microbiol. 2013;51(3):828-34.

Identifikasjon av dermatofytter med Maldi-TOF MS

Forfattere: Ida Sletteberg (Molde)/Kjersti Wik Larssen (St. Olav)

FORSLAG TIL ANBEFALINGER (RØD SKRIFT = TIL DISKUSJON KONTROVERSIELLE)

ANBEFALING 1 NÅR SKAL MALDI-TOF BENYTTES TIL DERMATOFYTTIDENTIFIKASJON?

- Fenotypisk vurdering makroskopisk og mikroskopisk eller identifikasjon ved hjelp av PCR er tilstrekkelig i de fleste tilfeller. Ved utbredt og/eller uttalt dermatofytose, ved tinea capitis, ved mistenkt smitte fra dyr, ved utbrudd eller ved terapivikt, bør prøvene dyrkes, og dermatofytter identifiseres med Maldi-TOF MS supplert med fenotypiske karakteristika.

ANBEFALING 2 VALG AV MEDIE FOR IDENTIFIKASJON

- Sabouraud glukose agar med kloramfenikol og gentamicin vil i de fleste tilfeller være egnet for identifikasjon.
- ID fungal plates har trolig en fordel hos dermatofytter, særlig dersom man benytter extended direct transfer metode og ikke full ekstraksjon.

ANBEFALING 3 EKSTRAKSJON OG PLATE

- Følg anbefalinger fra leverandør eller anvendte database.
- Full ekstraksjon med etanoltrinn er vist å gi gode spektra på tvers av databaser, og er anbefalt ved bruk av MSI2.0, MicrobeNet eller NIH. I tillegg sikrer etanol soppdrap.
- Extended direct transfer gir besparelse på tid og forenkler arbeid. Publiserte data på hvor godt en ekstraksjon uten etanol dreper sopp (smittefare personell + kontaminasjon i lab) er sparsom/mangelfull.

ANBEFALING 4 DATABASER OG SUPPLERENDE UNDERSØKELSER

- MSI2-databasen er vesentlig forbedret med hensyn til sikker identifikasjon av dermatofytter, der spektra fra kolonier i ulike vekststadier, samt kolonier fra både SAB og IDFP er lagt til grunn. Per i dag er dette databasen for best mulig identifikasjon av dermatofytter til species- eller species complex-nivå.
- MSI2-databasen har problem med å skille nært relaterte arter som *T.rubrum*/*T.violaceum* og *T.soudanense*, her kan supplerende testing bidra til sikker identifikasjon.

AVGRENSNING / RELEVANTE PROBLEMSTILLINGER

Diagnostikk av dermatofytter har tidligere basert seg på dyrkning og fenotypisk identifikasjon av makro og mikroskopiske vekstkarakteristika. Urea, BCP og evt andre konvensjonelle tester kan brukes som supplement i vurderingene. Dette er omtalt i Strategirapport i mykologi fra 2013 ([Microsoft Word - Strategirapport nr 27 \(2013\) Soppinfeksjoner.docx \(fhi.no\)](#)), og beskrives ikke videre her. Konvensjonelle metoder krever tid, erfaring og kunnskap.

PCR-basert påvisning av dermatofytter er i dag utbredt, enten alene eller som et supplement til dyrkning, og bidrar med økt sensitivitet og raskere svar. Begrensninger i PCR avhengig av hvilke species som er inkludert i PCR panel, og det er manglende evne til å skille mellom species innen enkelte species complex som *T.mentagrophytes*/*T.interdigitale*. Et kommersielt kit som DermaGenius 2.0/3.0 (Pathonostics, Maastricht, Nederland) skiller mellom ulike arter av *Tricophyton*, *Microsporum* og *Epidermophyton*, i tillegg til *Candida*. *T. indotineae* detekteres som en del av *T. mentagrophytes complex*, men differensieres ikke fra de andre artene i samme komplekset siden egen probe for *T. indotineae* ikke finnes

(1). Enkelte laboratorier har tatt i bruk ITS-sekvensering, men dette er ikke aktuelt for rutinediagnostikk grunnet begrenset tilgjengelighet, kompetanse og kostnad. Globalt foreligger en endring i dermatofyttenes epidemiologi, med økende forekomst og spredning av arter med iboende og ervervet resistens mot fortrinnsvis terbinafin, men også itraconazol, slik at korrekt artsidentifikasjon og feno- eller genotypisk resistensbestemmelse vil være av større betydning nå enn tidligere (1-6). Dermatofyttedyrking bør benyttes som supplement til PCR i situasjoner som beskrevet i ringtestrapport 707 og summert i anbefaling 1. Maldi-TOF MS har de siste årene i økende grad blitt brukt til vellykket identifikasjon av dermatofytter fra oppvekstkultur, særlig etter forbedrede offentlige databaser. Dette tilgjengeliggjør og forenkler identifikasjon av dermatofytter for laboratorier med begrenset erfaring i soppidentifikasjon.

Valg av system

Det er to systemer for MALDI-TOF MS som benyttes i Norge: MALDI Bio-Typer (MBT; Bruker Scientific) og VITEK MS (BioMerieux). Det finnes få sammenlignende studier på deres presisjon når det kommer til identifikasjon av dermatofytter. I de studiene som er gjort, har det vært benyttet ulike dyrkningsmedier, inkubasjonstider, databaser (og versjoner), algoritmer for danning av referansespektra, sammenligninger av ekstrahert spektrum opp mot referansespektrum, ekstraksjonsmetoder og target plates (7-9).

Valg av dyrkningsmedie og inkubasjonstid

Dermatofytter dyrkes i de fleste laboratorier på Saboraud med gentamicin og chloramphenicol (SGC) agar, samt Mycobiotic agar i 2-4 uker. MALDI-TOF bør gjøres så snart man får vekst på materiale fra SGC agar, ved utilfredsstillende spekter kan det gjentas. Man avsetter vanligvis minimum 2 spotter, og det anbefales i en del studier også 4 spotter for best mulig resultat. (2, 10-12). Det er relativt nylig lansert et medium, Id Fungi Plates (IDFP; Conidia Coniphy, Quincieux, Frankrike) som tillater enklere høsting av soppkolonier. En membran på overflaten forhindrer at hyfene vokser ned i agaren, slik at man unngår å kontaminere platen med agar. Enkelte studier finner bedre prestasjon ved bruk av IDFP, særlig ved direkte overføring for Bruker Maldi Biotyper (MBT) og flere databaser som Bruker Filamentous fungi (BFF), NIH databasen og Mass Spectrometry Identification platform (MSI). (7) IDFP vil være et mer kostbart alternativ enn Saboraud, slik at det neppe vil være hensiktsmessig for de fleste laboratorier i rutinediagnostikk av dermatofytter, men kan benyttes i tilfeller der identifikasjon er utfordrende (2).

Valg av ekstraksjonsmetode og target plate

Materiale fra kolonier, herunder frontmycel, kan overføres direkte til plate med maursyre (extended direct transfer) og dekkes av matrix, eller ekstraheres først og så overføres til plate, før man dekker med matrix. I flere studier anbefales det full proteinekstraksjon som gir bedre spektra og kvalitet på identifikasjon enn direkte overføring (2, 7, 8), selv om denne metoden er mer tid- og ressurskrevende. Direct transfer er også vist å kunne gi gode spektra, spesielt på vanlige arter (13). Biomerieux anbefaler for Vitek MS en spesifikk protokoll for filamentøse sopp med proteinekstraksjon og inaktivering av konidier ved hjelp av etanol, maursyre og acetonitril. (7, 14) Anbefalingen begrunnes i bedre resultater og av hensyn til biosikkerhet. For Bruker foreligger ikke tilsvarende anbefaling, slik at det blir opp til det enkelte laboratorium å vurdere hvilken metode som skal benyttes. Anbefaling fra databasens leverandør bør følges, og der en slik anbefaling ikke foreligger, vil valg av ekstraksjonsmetode være avhengig av erfaring og kompetanse i laboratoriet for vurdering av artsidentifikasjon opp mot konvensjonelle metoder. Offentlige databaser som Mass

Spectrometry Identification platform 2.0 (MSI 2.0) og MicrobeNet anbefaler full ekstraksjon.

Det anbefales å følge leverandørs anbefalinger vedrørende plate for dermatofytt-identifikasjon. Engangsplater minsker risiko for kontaminasjon, som kan være en fordel.

Valg av database

En av de største begrensningene ved Maldi-TOF MS i rutinediagnostikken er databasene tilknyttet systemene. Disse har varierende antall tilgjengelige arter samt antall spektra for hver enkelt art (7, 8, 15, 16). I tillegg er det utfordrende å skille mellom nært relaterte arter som *T. violaceum* og *T. soudanense*, samt å kunne differensiere mellom arter innenfor samme kompleks, som *T. mentagrophytes complex* (5, 8, 12, 13). Det finnes flere tilgjengelige databaser for identifikasjon av dermatofytter ved hjelp av Maldi-TOF MS, både kommersielle, brukerdefinerte og offentlig kurerte. For de to systemene som er i bruk i Norge i dag, Maldi Bio-Typer (MBT; Bruker Scientific) og VITEK MS (BioMerieux), finnes henholdsvis Bruker MBT HT Filamentous Fungi (BFF) IVD og MBT HT Filamentous Fungi Library, RUO, og VITEK MS IVD Knowledge Database (VKB) og Saramis RUO (bioMerieux) tilknyttet. Disse databasene lar seg ikke uten videre sammenligne, siden spekter i Brukers database er hentet fra vekst i flytende medier, mens det for NIH-databasen, VITEK MS IVD-databasen og MSI2.0 er høstet fra kolonier på faste medier (7, 8). I et par studier hvor man sammenligner de to tilgjengelige systemene for identifikasjon av filamentøse sopp fra vekst på faste medier, ser VITEK MS ut til å prestere bedre (7, 17). I 2017 ble MSI-databasen, som er en offentlig kurert database, lansert som en webapplikasjon fritt tilgjengelig. MSI2.0-databasen ble tilgjengelig i 2019 og oppdatert i 2022, forbedret fra MSI med mer nøyaktige algoritmer og flere tilgjengelige arter, slik at prosentandelen korrekt identifiserte arter har økt fra 63,4 til 91,7 % (12). Databasen utvikles kontinuerlig og oppdateres ihht gjeldende taksonomi (se tabell 1 i innlegg om identifikasjon av muggsopp). Det er fortsatt utfordrende å skille nært beslektede arter innenfor *T. rubrum*, *T. interdigitale*/*T. mentagrophytes*, og *T. equinum*/*T. tonsurans complex* ved hjelp av massespektrometri, slik at morfologiske trekk bør bidra til en samlet vurdering for identifikasjon (8, 12, 13). Species innenfor *T. mentagrophytes complex* har sammenfallende morfologiske trekk, men i en studie fra 2022 er MSI2.0-databasen blitt oppdatert med 142 referansespektra fra 12 stammer innenfor dette komplekset inkludert 3 *T. indotineae*-stammer. Det er høstet kolonier fra to ulike vekstmedier hver tredje dag etter oppvekst. Identifikasjonsraten for *T. indotineae* har bedret seg fra 5 % til 96 % (2, 4, 5). Denne arten har høy forekomst av terbinafinresistens, kan gi utbredte dermatofyttinfeksjoner, og er påvist i flere europeiske land inkludert Norge (1, 3, 5, 18). Per i dag gir VKB 3.2 og BFF 4.0 *T. indotineae* ut som *T. interdigitale* som *T. tonsurans* med god score, respektivt. Med MSI2.0 kan den identifiseres som *T. indotineae* med god score, fortrinnsvis etter full ekstraksjon.

Per dags dato er MSI2.0 kun kompatibel med spektra generert fra Bruker MBT-plattformen (7), men det foreligger publikasjon bruk av MSI2.0 på spekter generert fra VITEK MS (se omtale i identifikasjon av muggsopp med Maldi-TOF MS). Det ser ut til å være en klar fordel at databasene inneholder flere MSPs (mass spectral profiles) per stamme, samt flere stammer per species, i tillegg til bruk av både SAB med antibiotika og IDFP med kolonier i ulike stadier for å øke sannsynligheten for identifikasjon. (7, 12, 19) Både VKB og MSI/MSI 2.0 er bygget på flere MSPs per stamme, og kan slik sett ha en fordel. Kombinasjon av spekter generert fra Bruker-systemet opp mot MSI 2.0-databasen ser per i dag ut til å gi best mulig identifikasjon av dermatofytter ved MALDI-TOF MS (17).

Det er rapportert høye identifiseringsrater ved benyttelse av brukerdefinerte inhouse-databaser knyttet opp mot maldi-TOF MS (12), men det krever ekspertise både innenfor sekvensering og mykologi, slik at det ikke vil være tilgjengelig i de fleste laboratorier. Det er derfor et behov for offentlig tilgjengelige, kurerte referansespektra databaser med høy kvalitet, som MSI2.0, som utvikles og oppdateres i henhold til gjeldende taksonomi betydelig raskere enn de kommersielle (se tabell 1 i innlegg om identifikasjon av muggsopp). De kommersielle databasene VKB er FDA- og IVD-godkjent, mens BFF inntil nylig kun har vært RUO. Fra 2022 er det også lansert et IVD- bibliotek for Bruker. Det anbefales at man benytter SLP for å kvalitetssikre dyrkning og identifikasjon av dermatofytter, samt gjøre seg erfaringer vedrørende databasens kvaliteter og begrensninger, her har NEQAS en EQA for mycology.

Taksonomi og besvaring

Identifikasjon av dermatofytter kan være utfordrende på bakgrunn av nomenklaturens utvikling, som gjerne går raskere enn oppdatering av de ulike databasene. For vurderinger av taksonomi og kriterier for identifikasjon vises det til innlegg om identifikasjon av muggsopp med MALDI-TOF MS. For dermatofyttprøver bør morfologi sammenholdes med klinikk, prøvelokalitet, resultat ved massespektrometri, evt også resultat fra supplerende tester, før prøven besvares. I de tilfellene der korrekt artsidentifikasjon vurderes som klinisk relevant, enten ved alvorlige og/eller uttalte infeksjoner, eller ved opplysninger om terapivikt, bør prøven videresendes referanselab for bekreftelse av ID ned til species-nivå.

PROBLEMOMRÅDER

- Det er manglende enighet internasjonalt om valg av ekstraksjonsmetode av dermatofytter.
- Databasene har ulike begrensninger i antall arter som kan detekteres, antall spektra per art, og hvordan spektra er generert, slik at presisjonen for ulike arter vil variere mellom databasene.
- Ved alvorlige og uttalte infeksjoner og opplysninger om terapivikt bør man benytte offentlig kurert database i tillegg til den tilgjengelige kommersielle, evt benytte annen supplerende diagnostikk, evt bør isolatet sendes referanselab for korrekt identifikasjon.
- Hvordan bør *Trichophyton mentagrophytes* species complex besvares, kan den besvares endelig utfra prøvelokalisasjon og/eller kliniske opplysninger?

REFERANSER

1. Astvad KMT, Hare RK, Jørgensen KM, Saunte DML, Thomsen PK, Arendrup MC. Increasing Terbinafine Resistance in Danish Trichophyton Isolates 2019–2020. *Journal of Fungi*. 2022;8(2):150.
2. Normand A-C, Moreno-Sabater A, Jabet A, Hamane S, Cremer G, Foulet F, et al. MALDI-TOF Mass Spectrometry Online Identification of Trichophyton indotineae Using the MSI-2 Application. *Journal of Fungi*. 2022;8(10):1103.
3. Uhrlaß S, Verma SB, Gräser Y, Rezaei-Matehkolaei A, Hatami M, Schaller M, et al. Trichophyton indotineae—An Emerging Pathogen Causing Recalcitrant Dermatophytoses in India and Worldwide—A Multidimensional Perspective. *Journal of Fungi*. 2022;8(7):757.
4. Tang C, Ahmed SA, Deng S, Zhang L, Zoll J, Al-Hatmi AMS, et al. Detection of emerging genotypes in Trichophyton mentagrophytes species complex: A proposal for handling biodiversity in dermatophytes. *Frontiers in Microbiology*. 2022;13.
5. Jabet A, Normand AC, Brun S, Dannaoui E, Bachmeyer C, Piarroux R, et al. Trichophyton indotineae, from epidemiology to therapeutic. *J Mycol Med*. 2023;33(3):101383.

6. Chowdhary A, Singh A, Kaur A, Khurana A. The emergence and worldwide spread of the species *Trichophyton indotineae* causing difficult-to-treat dermatophytosis: A new challenge in the management of dermatophytosis. *PLOS Pathogens*. 2022;18(9):e1010795.
7. Lau AF. Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight for Fungal Identification. *Clin Lab Med*. 2021;41(2):267-83.
8. Cassagne C, Normand A-C, L'Ollivier C, Ranque S, Piarroux R. Performance of MALDI-TOF MS platforms for fungal identification. *Mycoses*. 2016;59(11):678-90.
9. Choi Y, Kim D, Choe KW, Lee H, Kim J-S, Ahn J-Y, et al. Performance Evaluation of Bruker Biotyper, ASTA MicroIDSys, and VITEK-MS and Three Extraction Methods for Filamentous Fungal Identification in Clinical Laboratories. *Journal of Clinical Microbiology*. 2022;60(11):e00812-22.
10. Gautier M, Ranque S, Normand AC, Becker P, Packeu A, Cassagne C, et al. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry: revolutionizing clinical laboratory diagnosis of mould infections. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20(12):1366-71.
11. L'Ollivier C, Cassagne C, Normand A-C, Bouchara J-P, Contet-Audonneau N, Hendrickx M, et al. A MALDI-TOF MS procedure for clinical dermatophyte species identification in the routine laboratory. *Medical Mycology*. 2013;51(7):713-20.
12. Jabet A, Normand A-C, Moreno-Sabater A, Guillot J, Risco-Castillo V, Brun S, et al. Investigations upon the Improvement of Dermatophyte Identification Using an Online Mass Spectrometry Application. *Journal of Fungi*. 2022;8(1):73.
13. da Cunha KC, Riat A, Normand A-C, Bosshard PP, de Almeida MTG, Piarroux R, et al. Fast identification of dermatophytes by MALDI-TOF/MS using direct transfer of fungal cells on ground steel target plates. *Mycoses*. 2018;61(9):691-7.
14. Respinis SD, Monnin V, Girard V, Welker M, Arsac M, Cellière B, et al. Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight (MALDI-TOF) Mass Spectrometry Using the Vitek MS System for Rapid and Accurate Identification of Dermatophytes on Solid Cultures. *Journal of Clinical Microbiology*. 2014;52(12):4286-92.
15. Patel R. A Moldy Application of MALDI: MALDI-ToF Mass Spectrometry for Fungal Identification. *Journal of Fungi*. 2019;5(1):4.
16. Wilkendorf LS, Bowles E, Buil JB, Lee HALvd, Posteraro B, Sanguinetti M, et al. Update on Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry Identification of Filamentous Fungi. *Journal of Clinical Microbiology*. 2020;58(12):10.1128/jcm.01263-20.
17. Dupont D, Normand AC, Persat F, Hendrickx M, Piarroux R, Wallon M. Comparison of matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) systems for the identification of moulds in the routine microbiology laboratory. *Clin Microbiol Infect*. 2019;25(7):892-7.
18. Khurana A, Sardana K, Chowdhary A. Antifungal resistance in dermatophytes: Recent trends and therapeutic implications. *Fungal Genet Biol*. 2019;132:103255.
19. Normand A-C, Cassagne C, Ranque S, L'Ollivier C, Fourquet P, Roesems S, et al. Assessment of various parameters to improve MALDI-TOF MS reference spectra libraries constructed for the routine identification of filamentous fungi. *BMC Microbiology*. 2013;13(1):76.

Identifikasjon av gjærsopp med Maldi-TOF MS

Forfatter: Cecilie Torp Andersen

FORSLAG TIL ANBEFALINGER (RØD SKRIFT = TIL DISKUSJON KONTROVERSIELLE)

ANBEFALING 1 – MALDI-TOF MS SOM IDENTIFIKASJONSMETODE FOR GJÆRSOPP

- Identifikasjon av gjærsopp ved hjelp av MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight) massespektrometri kan i stor grad erstatte fenotypiske og biokjemiske identifikasjonssystemer for gjærsopp (1,2,3,4).
- Funnet bør også samsvare/korrelere med koloniutseende på kromogen agar, **og bør støttes av en annen identifikasjonsmetode (sekvensering) ved uventet eller svært uvanlig agens i klinisk viktige prøver.**

ANBEFALING 2 IDENTIFIKASJON AV INVASIVE ISOLAT

- Gjærsopp fra blod og sterile områder samt fra antatt invasiv infeksjon skal identifiseres til artsnivå med hjelp av massespektrometri.
- Ved tvil om artsidentifikasjon benyttes sekvensering (ITS, D1D2 eller annet egnet målgen), alternativt helgenomsekvensering for identifikasjon. (5,6)
- Isolatet sendes referanselaboratoriet som verifiserer/utfører endelig identifikasjon.
- Ved spørsmål om utbrudd med candida vil helgenomsekvensering bli aktuelt (metode valideres/OUS).
- Gjærsopp bør påvises massespektrometrisk direkte i positiv blodkultur på lik linje som bakterier, alternativt kan massespektrometri fra tidlig vekst på skål bidra til rask identifikasjon av aktuelt agens og eventuelt rettlede behov for alternativ behandling. (7,8,9)
- Det er lite resistens mot aktuelle soppmidler i Norge og korrekt og rask identifikasjon kan benyttes til rådgivning med tanke på valg av antimykotika til pasienter som ikke har stått på langvarig behandling eller profylakse.

ANBEFALING 3 IDENTIFIKASJON AV KOLONISERENDE FLORA

- Koloniserende flora bør identifiseres, men krav til sikker identifikasjon er her mindre, eksempel bare med bakgrunn i farge og morfologi på kromogen agar eller kun tilstedeværelse av utløpere på mediet som indikerer *C.albicans* (men ikke utelukker *C.dubliniensis*).
- *C.auris* må alltid identifiseres massespektrometrisk
- **MALDI-TOF MS bør alltid benyttes på gjærsopp fra inneliggende risikopasienter eksempelvis fra hematologen eller intensivavdeling hvor koloniserende flora kan være/bli utgangspunkt for invasiv infeksjon.**

ANBEFALING 4 BRUK AV KROMOGENE MEDIER OG ANDRE SPESIFIKKE MEDIER FOR PÅVISNING AV GJÆRSOPP I PRØVE OG SOM MEDIUM FOR IDENTIFIKASJON

- Sabouraud glukose/dextrose agar med kloramfenikol og gentamicin er en universal, selektiv soppeskål som egner seg for dyrkning av gjærsopp og videre identifikasjon med MALDI-TOF MS
- Sabouraud skålen *kan* erstattes av candida kromskål ved gjærsoppdyrkning og identifikasjon av koloni *kan* foretas direkte fra kromskål.
- Ved soppdyrkning fra positiv blodkulturer med mikroskopifunn av sopp bør kromskål legges til for raskere preliminær identifikasjon og vurdering av blandingsinfeksjon.
- **Ved oppvekst på kromskål kreves minimum 3 døgns inkubering fra blodkultur og andre sterile prøver for å identifisere blandingskulturer.**
- Kromogen agar kan benyttes for screening av *C.auris*, men MALDI-TOF MS obligatorisk for identifikasjon av mistenkte/mulige *C.auris* kolonier.

- **Farge på kromogent medium bør samsvare med identifikasjon med MALD-TOF.**
- Andre selektive medier for påvisning av gjærsoppinfeksjoner er lite brukt i Norge. Da kryptokokkinfeksjoner er en raritet anses ikke bruk av birdseed/fuglefrøagar eller andre spesialmedier å være nødvendige i ordinær diagnostikk, men ved kryptokokkdyrking anbefales inkubasjon på to temperaturer.
- Benyttet medium kan påvirke spekter ved identifikasjon med MALDI-TOF og fersk subkultur til anbefalt medium anbefales hvis problemer med identifikasjon, men det *bør vanligvis* ikke være nødvendig å benytte *produsentenes* egne medier (BD™ and BMX™ SDA medium). (10)

ANBEFALING 5 PRØVEPREPARERING OG EKSTRAKSJONSMETODE

- Det anbefales å avsette to spot på targetplaten pr agens.
- Produsentene anbefaler som rutine samme ekstraksjonsmetoder for bakterier og gjærsopp. Prøvepreparering bør følge produsentens egne anbefalinger.
- **Ekstraksjonsmetode**
 - direkte metode; mikrobe + matrix
 - hurtig ekstraksjonsmetode; mikrobe + maursyre + matrix
 - full etanol/maursyre ekstraksjon (Bruker)
- Direkte metode uten maursyre *kan* fungere for gjærsopp, men celleveggen krever ofte ekstraksjon for bedre spekter.
- For identifikasjon av gjærsopp *anbefales* prøvepreparering med «direkte metode» fra koloni med «hurtigekstraksjon» med 100 % maursyre for å bryte ned celleveggen til gjærsoppen. Når blandingen er lufttørret kan matriksen tilsettes. Ved identifikasjon av mukoide kryptokokker kan det være lurt å tilsette maursyre på platen *først* for deretter å røre mikroben inn i syren.
- Dersom man *ikke* kommer til målet med hurtigekstraksjon anbefaler **Bruker** full «**etanol/maursyre ekstraksjon**» Bibliotekene i Brukerdatabasen er bygget opp ved hjelp av denne ekstraksjonen.
- Dersom man ikke får tilfredsstillende identifikasjon anbefaler BD å gjenta analysering med ordinær ekstraksjonsmetode.
- **Det kan synes som om anvendt teknikk for deponering på targetplaten/håndlag for de fleste gjærsopp er viktigere enn type plate og hvilken ekstraksjon som benyttes. Ulike studier spriker med hensyn til hva som faktisk fungerer best. Hvis man ikke lykkes med identifikasjon av gjærsopp bør man forsøke identifikasjon fra fersk subkultivering på anbefalt medium og man kan man vurdere å optimalisere både ekstraksjon og eventuelt bruk av type target plate. (8,11)**

ANBEFALING 6 BRUK AV DATABASER

- Produsentene har oppdaterte bibliotek/databaser for sopp som stort sett fungerer svært bra for vanlige gjærsopp
- Databaser er i stadig utvikling, råd som gis i en strategirapport er derfor raskt utdaterte.
- Både MALDI Biotyper og VITEK MS identifiserer de vanligste gjærsopparter, mens VITEC MS mister eller feil-identifiserer noen flere sjeldne arter og Bruker har pr 2024 færre dimorfe sopp i sin ordinære database. (10,12) .
- Man må være klar over produsentens oppgitte begrensinger for entydig ID/consistency/matching hints osv. som for bakterier
- Bruk av de IVD og FDA godkjente databasene innebærer dårligere identifikasjon av sjeldne agens.
- **Ved bruk av ikke-validerte databaser anbefaler BD/Bruker validering før disse tas i bruk.**

- Det er mulig å benytte egendefinerte databaser, men IVDR og CE merking kan på sikt tenkes å komplisere bruk av egne og andre ikke kommersielle databaser.
- For gjærsopp blir nomenklaturen i databasene oppdatert uten referanse til tidligere navn eller eventuelt aktuelt artskompleks. **Når databaseoppdateringer foreligger bør laboratoriene bør ha rutine for å håndtere oppdatere endringer i nomenklatur og kommentere nytt og gammelt navn/artskompleks i labdatasystemet, se detaljer under anbefaling 8. (10,13)**

ANBEFALING 7 KRITERIER FOR GODKJENNING TIL ARTSNIVÅ

- Produsentens anbefalinger/kriterier for cutoff for scoreverdi/prosent ID for godkjenning av identifikasjon tilstrebes, men for gjærsopp er lavere score/prosent ID vanlig og kan benyttes for sikker identifikasjon med noen begrensinger;
- **Bruker;** anbefaler cutoff for artsidentifikasjon som log score ≥ 2.0 , men flere publikasjoner beskriver sikker identifikasjon av gjærsopp til artsnivå med identifikasjons log score ≥ 1.7 , forutsatt for øvrig entydige identifikasjon/ «consistency», paralleller og eventuelle begrensinger oppgitt under «matching hints» - på lik linje med kriterier for bakterieartsidentifikasjon (14,15).
- Generelt forventes bedre scoreverdi når full ekstraksjons benyttes.
- **VITEK MS** angir score $\geq 90\%$ som tilfredsstillende for identifikasjon av gjærsopp. (16)
Alternative databaser som **MSI** (11) og **MicrobeNET** (17) kan benyttes for sikrere identifikasjon av sjeldne agens /dersom man mistenker at anvendt database ikke inneholder aktuell stamme, men disse databasene er vanligvis mindre aktuelle for identifikasjon av gjærsopp enn for muggsopp og dermatofytter.
- Laboratoriet bør tilstrebe å benytte oppdatert versjon/database og være klar over eventuelle fallgruver i benyttet system (12).

ANBEFALING 8 NOMENKLATUR

- Oppdaterte bibliotek og soppdatabaser (fra leverandører) benytter «nye»/ ikke innarbeide navn på gjærsopp med uten referanse til tidligere navn, eller eventuelt aktuelt artskompleks.
- **Det er ikke endelig konsensus i internasjonale medisinske mykologiske miljø om alle endringer innen nomenklatur av gjærsopp, og særlig vedrørende rapportering av nytt navn på tidligere candidaarter til kliniker. (1,18,19)**
- Nye navn utfordrer begrep som candidemi og medfører forvirring mtp innsending til NORM
- Nye non-Candida navn tar heller ikke høyde for EUCAST brytningspunktstabell for flukonazol for candidaarter uten spesifikke brytningspunkt.
- **Laboratoriet bør oppgi både nytt og gammelt navn, eventuelt tilhørende artskompleks i henhold til internasjonale anbefalinger, ikke kun overføre navnet i aktuelt bibliotek uten kommentar og avvente navneendring til konsensus foreligger. (18,19)**

ANBEFALING 9 KONVENSJONELLE FENOTYPISKE TESTER

- Konvensjonelle fenotypiske tester for identifikasjon av gjærsopp er ikke lengre i almen bruk og beskrives IKKE nærmere
 - Kimrør/Germtube; påvisning av *C. albicans*
 - Urease; *Cryptococcus spp.* og *Rhodotorula spp.* er urease positive.
Candida og *Trichosporon* har både urease positive og urease negative species.

ANBEFALING 10 MOLEKYLÆRE METODER VED IDENTIFIKASJON AV GJÆRSOPP FRA PRØVEMATERIALET

- Candida DNA påvisning finnes nå for utvalgte agens direkte i prøvematerialet
 - Blod (EDTA/serum)
 - Positiv blodkultur
 - Sterilt materiale

- Det finnes en kommersiell *C.auris* PCR til bruk i screening, men den er ikke i bruk i Norge på grunn av lav insidens og dessuten behov for dyrkning og resistensbestemmelse. Ulike plattformer med kommersiell PCR eller nye metoder eller kombinasjoner av slike omtales ikke nærmere.
- **Bruk av molekulære metoder for påvisning av Candida DNA direkte i blod/serum inngår foreløpig ikke i internasjonale anbefalinger og slik diagnostikk bør eventuelt tilpasses aktuell pasientpopulasjon og kommende anbefalinger. (20,21, 22)**
- **Det er problematisk å anvende molekulære metoder for påvisning av Candida DNA direkte i prøvematerialet der Candida er en del av normalfloraen. Kun de vanligste Candidaarter inngår i kommersielle tester, og sjeldne arter påvises ikke. Bruk av slike tester er foreløpig beholdt visse risikogrupper hvor påvisning av Candida DNA kan erstatte soppsekvensering i sterile materialer.**

ANBEFALING 10 MOLEKYLÆRE METODER VED IDENTIFIKASJON AV GJÆRSOPP FRA KOLONI

- Molekulære metoder utover sekvensering anses ikke nødvendige for å komme i mål med identifikasjon fra koloni/oppdyrket materiale der massespektrometri ikke er entydig.

AVGRENSNINGER OG RELEVANTE PROBLEMSTILLINGER

Avgrensning:

Innlegget tar for seg *identifikasjon* av medisinsk relevante gjærsopp og vil i liten grad berøre problemstillinger knyttet til bruk av ulike plattformer med kommersiell PCR, nye metoder eller kombinasjoner av slike for påvisning av gjærsopp DNA direkte i prøvematerialet. Innlegget vil heller ikke inngående gå inn på problemstillinger knyttet til påvisning av dimorfe sopparter som er svært sjeldent forekommende i Norge.

De fleste problemstillinger knyttet til identifikasjon av gjærsopp er de samme som for bakterier og der dette er tilfelle blir ikke tema inngående utdypet i innlegget. Bruk av automatisert teknologi for avsetting av spot på plate/full automasjon omtales heller ikke nærmere (23). Påvisning av gjærsopp direkte i positiv blodkultur er bare nevnt og antas omtalt i eget innlegg. Konvensjonelle fenotypiske tester for identifikasjon av gjærsopp er ikke lengre i almen bruk og beskrives IKKE nærmere.

Relevante problemstillinger:

MALDI-TOF MS er en uovertruffen identifikasjonsmetode for gjærsopp og bør følge internasjonal standard. De fleste problemstillinger knyttet til bakterieidentifikasjon med massespektrometri vil også gjelde for gjærsopp. (24)

Metoden kan i stor grad erstatte fenotypiske og biokjemiske identifikasjonssystemer for gjærsopp. (1,2,3, 4) MALDI-TOF MS muliggjør en rask og korrekt identifikasjon og utgjør et stort fremskritt i moderne pasientbehandling. (9,20,21,22)

Mulighet for å identifisere gjærsopp direkte i positive blodkultur på lik linje med bakterier muliggjør påvisning av flere typer gjærsopp enn de som normalt inngår i kommersielle DNA baserte identifikasjonssystemer, alternativt kan massespektrometri fra tidlig vekst på skål bidra til rask identifikasjon av aktuelt agens og rettlede behov for alternativ behandling. (7,8)

Det er lite resistens mot aktuelle soppmidler i Norge og korrekt og rask identifikasjon kan benyttes til rådgivning mtp valg av antimykotika til pasienter som ikke har stått på langvarig behandling eller profylakse.

Gjærsopp dyrkes normalt på selektive medier som Sabouraud glukose/dextrose agar med kloramfenikol og gentamicin eller man benytter direkte utsæd på kromogene soppmedier. Ved soppdyrkning fra positiv blodkultur med mikroskopifunn av sopp bør kromskålen legges til for raskere preliminær identifikasjon og vurdering av blandingsinfeksjon og skålen bør inkuberes i 3 døgn. Inkubering ved to temperaturer anbefales ved mistanke om kryptokokkinfeksjon. Kromogen agar benyttes for screening av *C.auris*, men MALDI-TOF MS er obligatorisk for identifikasjon av

mistenkte/mulige *C.auris* kolonier. Andre selektive medier for påvisning av gjærsoppinfeksjoner er lite brukt i Norge. Kryptokokkinfeksjoner er en raritet og bruk av birdseed/fuglefrøagar eller andre spesialmedier anses ikke å være nødvendige ved kryptokokkdyrkning.

SAB er anbefalt medium for videre identifikasjon med MALDI-TOF MS, men andre medier og kromskålen kan også benyttes. Farge og kolonimorfologi på kromskål kan gi en indikasjon på aktuell art, men for entydig identifikasjon bør invasive isolat og isolat fra risikopasienter identifiseres med MALDI-TOF MS og funnet samsvare med fenotypisk identifikasjon/vekst på kromskål.

Teknisk utførelse for identifikasjon av gjærsopp sammenfaller i stor grad med identifikasjon av bakterier. Det anbefales å benytte 2 spot på platen og følge produsentens anbefalinger for ekstraksjon. Teknikk er sannsynligvis viktigere enn type plate forutsatt adekvat rengjøring av gjenbruksplater.

Det er mulig å komme til målet med direkte avsetning av gjærsoppen på plate kun med bruk av matrix *uten* forutgående ekstraksjon med maursyre, men for identifikasjon av gjærsopp *anbefales* prøvepreparering med «direkte metode» fra koloni med «hurtigekstraksjon» med 100% maursyre for å bryte ned celleveggen til gjærsoppen. Når blandingen er lufttørret på platen kan matriksen tilsettes. Ved identifikasjon av mukoide kryptokokker kan det være en fordel å tilsette maursyre på platen *først* for deretter å røre mikroben inn i syren.

Dersom man *ikke* kommer til målet med «hurtigekstraksjon» anbefaler **Bruker full «etanol/maursyre ekstraksjon»**. Dette kan være særlig nyttig for «harde» sopparter som *Trichosporon*. Bibliotekene i Brukerdatabasen er bygget opp ved hjelp av denne ekstraksjonsmetoden. BD anbefaler å gjenta analysen med ordinær ekstraksjonsmetode.

Ved mistanke om dimorfe sopp/P3 organismer må inaktivering skje i sikkerhetskabinett på P3 lab med inaktivering/full ekstraksjon med etanol/maursyre, men inaktivert materiale kan tas med ut av P3 lab for videre identifikasjon. Identifikasjon med hjelp av MALDI-TOF MS av gjærformen av P3 organismer som *Histoplasma spp* eller *Coccidioides spp* kan være vellykket, men på generell basis skal identifikasjon av muggformen være bedre enn gjærformen-se annet innlegg. I Norge har vi knapt erfaring med slike infeksjoner. Bibliotekene oppdateres fortløpende med nye agens og man må forvente at også Bruker oppdaterer sin database med dimorfe sopp som BD/ VITEC MS har gjort.

(12)

Det kan synes som om anvendt teknikk for deponering på plate for de fleste gjærsopp er viktigere enn type targetplate og hvilken ekstraksjon som benyttes. Ulike studier spriker med hensyn til hva som faktisk fungerer best. Hvis man ikke lykkes med identifikasjon av gjærsopp kan man optimalisere ekstraksjon og eventuelt bruk av type targetplate. (1,8,11)

Benyttet medium kan også påvirke spekter ved identifikasjon med MALDI-TOF og fersk subkultur til anbefalt medium anbefales hvis problemer med identifikasjon, men det bør *vanligvis* ikke være nødvendig å benytte *produsentenes* egne medier (BD™ and BMX™ SDA medium) (10)

BIBLIOTEK/DATABASER

Produsentene har oppdaterte bibliotek/databaser med spekter for ulike typer sopp. Både MALDI Biotyper og VITEC MS identifiserer de vanligste gjærsopparter. VITEC MS mister eller feil-identifiserer noen flere sjeldne arter og Bruker har færre dimorfe sopp i sin ordinære database. (10)

Bruk av de IVD og FDA godkjente databasene innebærer potensielt dårligere identifikasjon av sjeldne agens da disse ikke nødvendigvis ligger inne. Databasene er dessuten i stadig utvikling, råd som gis i en strategirapport er derfor raskt utdaterte.

Man må være klar over produsentens oppgitte begrensinger for entydig ID/consistency/matching hints osv. som for bakterier. Ved bruk av ikkevaliderte databaser anbefaler BD og Bruker validering før bruk. Det er også mulig å benytte egendefinerte databaser, men IVDR og CE merking kan på sikt tenkes å komplisere bruk av egendefinerte og andre ikke kommersielle databaser. (10,13)

For gjærsopp blir nomenklaturen i bibliotekene/databasene oppdatert uten referanse til tidligere navn eller eventuelt aktuelt artskompleks. Mange sopparter har tidligere hatt ulikt navn i kjønnnet og ukjønnnet form noe som skal være ivaretatt i hht «one fungus one name». Dette er i stor grad implementert i aktuelle malditof databaser, som ofte er raskt uten med å implementere nye navn,

uten at dette nødvendigvis er helt konsistent. (Eksempel *Candida glabrata* men *Pichia kudriavzevii*). **Laboratoriene bør ha rutine for å oppdatere ny nomenklatur og kommenterer nytt og gammelt navn/artskompleks når databaseoppdateringer foreligger, men bør ikke adoptere alle nye endringer uten konsensus, se anbefaling 8.**

KRITERIER FOR IDENTIFIKASJON

Spekteret sammenlignes med aktuelle spekter i instrumentets database og algoritmer beregner en logscore/scoreverdi/prosent ID hvor produsenten oppgir kriterier for sikker identifikasjon uten å ta hensyn til om agens er bakterie eller sopp. Produsentens anbefalinger tilstrebes, men for gjærsopp er en lavere score/prosent vanlig og kan ofte benyttes for sikker identifikasjon med noen begrensninger. **Bruker** anbefaler cut-off for artsidentifikasjon log score ≥ 2.0 , men flere publikasjoner beskriver sikker identifikasjon av gjærsopp til artsnivå med log score ≥ 1.7 i Brukerdatabasen, forutsatt forøvrig entydige identifikasjon/ «consistency» og paralleller- på lik linje med kriterier for bakterieartsidentifikasjon. Årvåkenhet anbefales der det er få spekter i databasen, som for bakterier. Generelt forventes bedre scoreverdi når full ekstraksjons benyttes. (14)

VITEK MS angir score $\geq 90\%$ som tilfredsstillende (16) Alternative databaser som **MSI** (11) og **MicrobeNET** (17) kan benyttes for sikrere identifikasjon av sjeldne agens /dersom man mistenker at anvendt database ikke inneholder aktuell stamme, men disse databasene er vanligvis mindre aktuelle for gjærsopp enn for muggsopp og dermatofytter.

Laboratoriet bør tilstrebe å benytte oppdatert versjon/database og være klar over eventuelle fallgruver i benyttet system. Bruker og BD anbefaler validering ved bruk av lavere score/prosent ID enn systemet opererer med. (8,14,15)

Som for bakterier er kvaliteten på bibliotekene/databasene som benyttes essensielle for kvaliteten på identifikasjon og laboratoriene må jevnlig oppdatere i tråd med gjeldene anbefalinger (se annet innlegg). Ikke alle navndringer i databasene er velfunderte og forankret i et bredere fagmiljø og soppnomenklatur er utfordrende (se senere).

NOMENKLATUR

Taksonomi basert på molekylær fylogeni har reorganisert mykologien som tidligere baserte seg på morfologi og biokjemiske tester. Fenotypiske og biokjemiske tester klarte ikke å skille gjærsopp i ulike artskompleks og feilidentifikasjon for enkelte arter var tidligere et stort problem, men med ny nomenklatur oppstår nye utfordringer.

Sopp er til forskjell fra bakterier mer komplekse, eukaryote organismer og samme art kan gjenfinnes i kjønnnet og ukjønnnet form ofte med ulik navn. Oppdaterte bibliotek og soppdatabaser benytter «nye»/ ikke innarbeide navn på gjærsopp uten referanse til tidligere navn, eller eventuelt tilhørighet til aktuelt artskompleks.(18)

Ikke alle nye navn er kvalitetssikret og «godkjent» av medisinske mykologer da de ikke tar hensyn til at sopp er komplekse organismer. Og selv nye, aksepterte og godkjente navn utfordrer i mange tilfeller innarbeidede begrep som candidemi og medfører forvirring mtp innsending til NORM, kliniske brytningspunkter og så videre. Nye non-Candida navn er ikke implementert i EUCAST brytningspunktstabell for flukonazol for candidaarter uten spesifikke brytningspunkt.

Det er ønskelig at man i Norge enes om, om, når og hvordan nye navn implementeres for å unngå forvirring- for sopp på samme måte som for bakterier. For sopp må man også ta hensyn til muligheten for ulike navn på kjønnnet/ukjønnnet form og nomenklatur i produsentenes bibliotek er ikke nødvendigvis kvalitetssikret/forankret i et bredt mykologisk fagmiljø. En internasjonal konsensus fra 2023 har forsøkt med en forsiktig tilnærming og råd for implementering av nye navn og norske laboratoriene bør følge denne og fremtidige oppdateringer (18).

Laboratoriet bør i hht konsensus på årets strategimøte oppgi både nytt og gammelt navn eventuelt tilhørende artskompleks i hht internasjonale anbefalinger, ikke kun overføre navnet i aktuelt bibliotek uten kommentar. (18,19)

Labdatasystemene vil være førende for hvordan navn kan gjengis, men inntil internasjonal konsensus mener referanselaboratoriet at *Candida* navnet fortsatt bør brukes med en kommentar om at nomenklatur er i endring og angi nytt/foreslått navn og eventuelt tilhørende artskompleks.

Annen identifikasjon

Ved tvil om artsidentifikasjon benyttes sekvensering (ITS2 eller D1D2 eller annet egnet målgen), alternativt helgenomsekvensering for identifikasjon av gjærsopp. (5)

Isolatet sendes referanselaboratoriet som verifiserer/utfører endelig identifikasjon. Ved spørsmål om utbrudd med *Candida* er helgenomsekvensering aktuelt, metode valideres på OUS 24/25.

Molekylære metoder for påvisning av gjærsopp direkte i prøvematerialet

Metoder for påvisning *Candida* DNA finnes nå for utvalgte agens direkte i prøvematerialet som blod (EDTA/serum), positiv blodkultur og sterile materiale. Ulike plattformer med kommersiell PCR eller nye metoder eller kombinasjoner av slike som ikke omtales nærmere i rapporten.

Det finnes en kommersiell *C. auris* PCR til bruk i screening, men den er foreløpig ikke i bruk i Norge pga svært lav insidens men også da det samtidig er behov for dyrkning og resistensbestemmelse.

Bruk av molekylære metoder for påvisning av *Candida* direkte i blod/serum inngår foreløpig ikke i internasjonale anbefalinger og slik diagnostikk bør tilpasses aktuelle pasientpopulasjoner og kommende anbefalinger. ECMM utarbeider i samarbeid med ISHAM og ASM nye retningslinjer for diagnostikk og håndtering av candidainfeksjoner se [Candidiasis - ECMM](#)

Bruk av molekylære metoder for påvisning av *Candida* direkte i prøvematerialet er mulig men vanskeligjøres der *Candida* er en del av normalflora og tilbys derfor fortrinnsvis i presumptivt sterile materialer. Ikke alle *Candida* arter inngår i kommersielle tester og bruk av slike tester er foreløpig forbeholdt visse risikogrupper hvor påvisning av *Candida* DNA kan erstatte soppsekvensering i sterile materialer (20,21,22).

For kryptokokker er en antigen test kommersielt tilgjengelig og det er lovende antigen tester for påvisning av endemiske soppinfeksjoner på markedet, men dette omtales ikke nærmere i denne rapporten (se strategimøtet for virologi/serologi 2024).

Molekylære metoder utover sekvensering anses ikke nødvendige for å komme i mål med identifikasjon fra koloni/oppdyrket materiale for gjærsopp.

Oppsummert

MALDI-TOF MS er en uovertruffen identifikasjonsmetode for gjærsopp. De fleste laboratorier utfører korrekt identifikasjon på de hyppigst forekommende gjærsopp, men må påse at man jobber med renkultur.

Sjeldne og uvanlige gjærsopp bør sendes til referanselaboratoriet for endelig identifikasjon, likeså alle gjærsopp fra pasienter med fungemi og alvorlige infeksjoner for verifisering av identifikasjon og resistensbestemmelse.

C. auris er nominativt meldepliktig og skal innsendes for overvåkning.

Rask identifikasjon til artsnivå av klinisk relevant gjærsopp kan vanligvis rettlede valg av behandling da ervervet resistens er uvanlig hos pasienter uten forutgående langvarig soppbehandling eller profylakse. Alle gjærsoppisolat fra blodkultur og invasive infeksjoner bør sendes til referanselaboratoriet. *Candida*isolat fra blodkultur inngår i NORM overvåkingen og må sendes inn.

PROBLEMOMRÅDE 1

Kriterier for godkjenning av artsidentifikasjon, bruk av lavere log score/prosent ID. Bør man følge produsentens anbefalinger og hvis ikke må man validere bruk av lavere log score/prosent ID?

PROBLEMOMRÅDE 2

Bruk av ikke-validerte databaser. Uten mulighet for å benytte slike databaser blir det vanskelig å identifisere uvanlige gjærsopp.

Dette gjelder både «Research use only» (RUO) databaser fra Bruker MBT (RUO) og VITEK MS (SARAMIS) i tillegg til ikke kommersielle databaser som MSI og Mikrogen og egendefinerte databaser.

Bør bruken av slike og eksterne databaser valideres og bør alle laboratorier benytte slike databaser eller bare på referanselaboratoriet/ utvalgte avdelinger med større prøvevolum?

PROBLEMOMRÅDE 3

Kriterier for forsendelse til referanselaboratoriet; Gjærsoppisolat fra blod OG sterile områder/invasive infeksjoner samt alle nye *C.auris* isolat som er meldepliktig til MSIS skal sendes til referanselaboratoriet for verifisering av identifikasjon og resistensbestemmelse. Alle laboratorier bør utføre resistensbestemmelse av gjærsopp med en validert kommersiell metode.

PROBLEMOMRÅDE 4

Nomenklatur, (anbefaling 8) Bibliotekene endrer navn uten hensyntagen til anbefalinger om å rapportere nytt og gammelt navn, og eventuelt aktuelt artskompleks. Diskusjonen må også sees i relasjon til problemstilling knyttet til bakterier

PROBLEMOMRÅDE 5

Oppmuntrer full identifikasjon av normalflora til unødvendig behandling? (anbefaling 3)

REFERANSER

- 1 Patel, R. A Moldy Application of MALDI: MALDI-ToF Mass Spectrometry for Fungal Identification. *J. Fungi* 5, 4 (2019). [JoF | Free Full-Text | A Moldy Application of MALDI: MALDI-ToF Mass Spectrometry for Fungal Identification \(mdpi.com\)](#)
- 2 Lau AF. Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight for Fungal Identification. *Clin Lab Med.* 2021 Jun;41(2):267-283. doi: 10.1016/j.cl.2021.03.006. Epub 2021 Apr 24. PMID: 34020763; PMCID: PMC8220872. [MALDI-TOF for Fungal Identification - PMC \(nih.gov\)](#)
- 3 Clark AE, Kaleta EJ, Arora A et al. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry: a fundamental shift in the routine practice of clinical microbiology. *Clin Microbiol Rev.* 2013; 26: 547–603. [Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry: a Fundamental Shift in the Routine Practice of Clinical Microbiology - PMC \(nih.gov\)](#)
- 4 Robert MG, Cornet M, Hennebique A, Rasamoelina T, Caspar Y, Pondérand L, Bidart M, Durand H, Jacquet M, Garnaud C, Maubon D. MALDI-TOF MS in a Medical Mycology Laboratory: On Stage and Backstage. *Microorganisms.* 2021 Jun 12;9(6):1283. doi: 10.3390/microorganisms9061283. PMID: 34204665; PMCID: PMC8231132. [MALDI-TOF MS in a Medical Mycology Laboratory: On Stage and Backstage - PMC \(nih.gov\) Microorganisms.](#) 2021 Jun; 9(6): 1283.
- 5 Ying Zhao, Chi-Ching Tsang, Meng Xiao, Jasper F W Chan, Susanna K P Lau, Fanrong Kong, Yingchun Xu, Patrick C Y Woo, Yeast identification by sequencing, biochemical kits, MALDI–TOF MS and rep-PCR DNA fingerprinting, *MEDICAL MYCOLOGY*, Volume 56, Issue 7, October 2018, Pages 816–827, <https://doi.org/10.1093/mmy/myx118>
- 6 Salem-Bango Z, Price TK, Chan JL, Chandrasekaran S, Garner OB, Yang S. Fungal Whole-Genome Sequencing for Species Identification: From Test Development to Clinical Utilization. *J Fungi (Basel).* 2023 Jan 29;9(2):183. doi: 10.3390/jof9020183. PMID: 36836298; PMCID: PMC9965959.
- 7 Faron ML, Buchan BW, Ledeboer NA. Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry for Use with Positive Blood Cultures: Methodology, Performance, and Optimization. *J Clin Microbiol.* 2017 Dec;55(12):3328-3338. doi: 10.1128/JCM.00868-17. Epub 2017 Aug 30. PMID: 28855303; PMCID: PMC5703799.
- 8 REF Ghosh AK, Paul S, Sood P et al. matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry for the rapid identification of yeasts causing bloodstream infections. *Clin Microbiol Infect.* 2015; 21: 372–378.
- 9 Ref 9 Walsh T.J., McCarthy M.W. The expanding use of matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectroscopy in the diagnosis of patients with mycotic diseases. *Expert Rev. Mol. Diagn.* 2019;19:241–248. doi: 10.1080/14737159.2019.1574572.
- 10 Teke L, Barış A, Bayraktar B, Comparative evaluation of the Bruker Biotyper and Vitek MS matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) systems for

non-albicans Candida and uncommon yeast isolates, *Journal of Microbiological Methods*, Volume 185, 2021,106232, ISSN 0167-7012

11 Normand AC, Gabriel F, Riat A, et al. Optimization of MALDI-ToF mass spectrometry for yeast identification: a multicenter study. *Med Mycol*. July 1 2020;58(5):639–649.

12 Valero C, Buitrago MJ, Gago S, Quiles-Melero I, García-Rodríguez J, A matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry reference database for the identification of HISTOPLASMA CAPSULATUM, *MEDICAL MYCOLOGY*, Volume 56, Issue 3, April 2018, Pages 307–314.

13 Lévesque S, Dufresne PJ, Soualhine H, Domingo MC, Bekal S, Lefebvre B, Tremblay C. A Side by Side Comparison of Bruker Biotyper and VITEK MS: Utility of MALDI-TOF MS Technology for Microorganism Identification in a Public Health Reference Laboratory. *PLoS One*. 2015 Dec 10;10(12):e0144878. doi: 10.1371/journal.pone.0144878. PMID: 26658918; PMCID: PMC4689555

14 Vlek A, Kolečka A, Khayhan K et al. Interlaboratory comparison of sample preparation methods, database expansions, and cutoff values for identification of yeasts by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry using a yeast test panel. *J Clin Microbiol*. 2014; 52: 3023–3029.

15 Pence M, Mcelvania T, Wallace M et al. Comparison and optimization of two MALDI-ToF MS platforms for the identification of medically relevant yeast species. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2014; 33: 1703–1712.

16 Jamal WY, Ahmad S, Khan ZU, Rotimi VO, Comparative evaluation of two matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) systems for the identification of clinically significant yeasts, *International Journal of Infectious Diseases*, Volume 26, 2014, Pages 167-170, ISSN 1201-9712, <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2014.05.031>.

17 Mikrogenet; [Identification of Yeasts Using MALDI-TOF | Fungal Diseases | CDC](#)

18 de Hoog S, Walsh TJ, Ahmed SA, Alastruey-Izquierdo A, Alexander BD, Arendrup MC, et al. A conceptual framework for nomenclatural stability and validity of medically important fungi: a proposed global consensus guideline for fungal name changes supported by ABP, ASM, CLSI, ECMM, ESCMID-EFISG, EUCAST-AFST, FDLC, IDSA, ISHAM, MMSA, and MSGERC. *J Clin Microbiol*. 2023;61(11):e0087323.

19 Borman AM, Johnson EM. Changes in fungal taxonomy: mycological rationale and clinical implications. *Clin Microbiol Rev*. 2023;36(4):e0009922.

20 Mendonça A, Santos H, Franco-Duarte R, Sampaio P, Fungal infections diagnosis – Past, present and future, *Research in Microbiology*, Volume 173, Issue 3, 2022, 103915, ISSN 0923-2508

21 Jenks JD, Gangneux JP, Schwartz IS, Alastruey-Izquierdo A, Lagrou K, Thompson Iii GR, Lass-Flörl C, Hoenigl M; European Confederation of Medical Mycology (ECMM) Council Investigators. Diagnosis of Breakthrough Fungal Infections in the Clinical Mycology Laboratory: An ECMM Consensus Statement. *J Fungi (Basel)*. 2020 Oct 11;6(4):216. doi: 10.3390/jof6040216

22 Chen, Sharon C-A et al. Global guideline for the diagnosis and management of rare yeast infections: an initiative of the ECMM in cooperation with ISHAM and ASM *The Lancet Infectious Diseases*, Volume 21, Issue 12, e375 - e386

23 Cherkaoui A, Riat A, Renzi G, Fischer A, Schrenzel J. Diagnostic test accuracy of an automated device for the MALDI target preparation for microbial identification. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2023 Feb;42(2):153-159. doi: 10.1007/s10096-022-04531-3. Epub 2022 Dec 5. PMID: 36469165; PMCID: PMC9836989.

24 Clinical and Laboratory Standards Institute. *Methods for the Identification of Cultured Microorganisms Using Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry*. 1st ed. Volume M58 Clinical and Laboratory Standards Institute; Wayne, PA, USA: 2017. [[Google Scholar](#)]

Sammendrag 12 Mykobakterier

Identifikasjon av mykobakterier

Forfattere: Anne-Torunn Mengshoel (ref. lab., FHI) og André Ingebretsen, Oslo universitetssykehus

FORSLAG TIL ANBEFALINGER (RØD SKRIFT = TIL DISKUSJON KONTROVERSIELLE)

ANBEFALING 1 – BRUK AV IVD GODKJENT ARBEIDSFLYT

Det anbefales å bruke IVD godkjente systemer så langt det praktisk lar seg gjøre. Bruk av arbeidsflyt som ikke er IVD godkjent bør valideres som «in-house» kit etter IVDR artikkel 5. Arbeidsflyt inkluderer inaktivering, ekstraksjon, bruk av egnet MS database samt evt. modifikasjoner av teknisk metode for innsamling av spektre.

ANBEFALING 2 – IDENTIFIKASJON AV HURTIGVOKSENDE MYKOBakterier

Ved mistanke om hurtigvoksende mykobakterier bør en utføre identifikasjon ved eget laboratorium eller samarbeidende lab. ev. referanselab. innen rimelig tid, avhengig av klinisk relevans, prøvematerialet og pasientens tilstand. MALDI TOF MS er en godt egnet metode for identifikasjon av hurtigvoksende mykobakterier både fra fast medium og fra flytende medium.

ANBEFALING 3 – IDENTIFIKASJON AV M.TUBERCULOSIS KOMPLEKS (MTBC) OG LANGSOMTVOKSENDE NTM

Ved selektiv dyrkning for mykobakterier er det viktig med rask avklaring om det er tuberkulosebakterier som vokser, og for NTM utføre identifikasjon ved eget laboratorium eller samarbeidende lab/referanselab. innen rimelig tid, avhengig av klinisk relevans, prøvematerialet og pasientens tilstand. MALDI TOF MS er en godt egnet metode for identifikasjon av NTM fra faste medier og fra flytende medier. MALDI TOF MS kan identifisere MTBC til artskompleks-nivå, men om man vil gjøre dette som rutine bør være opptil laboratoriet. Viser til punkt under for andre metoder for identifikasjon av MTBC.

AVGRENSNINGER RELEVANTE PROBLEMSTILLINGER

Det vises til rapport fra strategimøte 2016 om Mykobakteriediagnostikk. Dette innlegget er her oppdatert med et hovedfokus på identifikasjon med MALDI-TOF MS, og tar utgangspunkt i Bruker Daltonics og Biomerieux sine systemer.

PROBLEMOMRÅDE 1 – ROUTINE MYKOBakterie DIAGNOSTIKK

Rutiner på laboratoriene inkluderer følgende:

- Identifikasjon direkte i prøvematerialet. Viser til WHO operational handbook for oppdatert informasjon om påvisning av MTBC og rifampicin resistens direkte i prøvemateriale.
- Identifikasjon ved tilfeldig funn av hurtigvoksende mykobakterier ved vanlig bakteriologisk undersøkelse. Ved mistanke om hurtigvoksende mykobakterier utføres identifikasjon ved eget laboratorium eller samarbeidende lab/. referanselab. innen rimelig tid, avhengig av klinisk relevans, prøvematerialet og pasientens tilstand
- Mikroskopi med spesialfarging: påviser syrefaste staver
- MALDI-TOF MS: gir art eller gruppe/kompleks
- Selektiv sekvensering av målgjen: gir art eller gruppe/kompleks

MALDI TOF systemene er gode til å identifisere mykobakterier selv om noen kun til artskompleks. Hvilket nivå av identifikasjon som er ønskelig må vurderes på de ulike laboratoriene basert på den kliniske problemstillingen.

- Identifikasjon av mykobakterier ved selektiv dyrkning for mykobakterier på primærlab
- Rask avklaring om det foreligger vekst av tuberkulosebakterier er viktig
- Veksthastighet: sannsynliggjør hurtig eller langsomtvoksende mykobakterie
- Mikroskopi med spesialfarging: påviser syrefaste staver og morfologi gir mistanke om MTBC
- MPT64 antigen: resultat sammen med mikroskopi sannsynliggjør tuberkulosebakterier
- NAAT for MTBC: bekrefter/avkrefter tuberkulosebakterier
- Ved vekst på fast medium: pigmentering med eller uten lyseksponering kan sammen med veksthastighet sannsynliggjøre art eller gruppe/kompleks
- MALDI-TOF MS: gir art eller gruppe/kompleks av NTM, ev. MTBC
- Selektiv sekvensering av målgen: gir art eller gruppe/kompleks av NTM
- Helgenomsekvensering av mykobakterier hvis tilgjengelig

Rutiner for Identifikasjon av mykobakterier på Nasjonalt referanselab (NRL) på FHI.

Ved referanselab får man i dag rask bekreftelse på at innsendt kultur tilhører MTBC og endelig artsidentifikasjon fåes ved helgenomsekvensering (line probe assay (LPA)), og NTM identifiseres til gruppe/kompleks/species og subspecies nivå avhengig av funnets kliniske relevans, især der det er aktuelt å behandle pasienten og/eller resistensbestemmelse er ønsket utført.

Metoder for identifikasjon som benyttes ved NRL per i dag:

- Identifikasjon ved NRL baserer seg på molekylære metoder.
- LPA (line probe assay) fra Hain: revers hybridisering med ulike målgen for de ulike testene
- Utfører MTBDRplus ved mottak av kultur som sannsynlig tilhører *M. tuberculosis*-komplekset og påviser mutasjoner assosiert med resistens for rifampicin og isoniazid
- Utfører MTBDRsl ved påvist resistens for rifampicin og/eller isoniazid
- Utfører GenoType Mycobacterium CM og AS ev. NTM-DR for identifikasjon av NTM
- Utfører GenoType MTBC ved mistanke om *M. bovis* BCG.
- Helgenomsekvensering og egnet database for artsidentifikasjon av MTBC og av NTM, ved behov.

Diagnostikken som utføres på NRL sees i sammenheng med diagnostikken utført på primærlaboratoriene. Isolat kan oppbevares i stamme bank under "Identifikasjon utført ved innsendende laboratorium" hvis metoden som benyttes er tilstrekkelig kvalitetssikret og ikke må bekreftes ved NRL.

PROBLEMOMRÅDE 2 – MALDI TOF MS

Generelt er *Mycobacterium sp* mer krevende å identifisere ved MALDI TOF MS enn andre bakterier. Dette skyldes både celleveggkomposisjon og en generell lavere metabolsk aktivitet sammenlignet med andre bakterier. Dette kan assosieres med deres lave antall ribosomer. Siden identifikasjon av bakterier ved MALDI TOF MS baserer seg på deteksjon av ribosomale proteiner er man helt avhengig av en optimal prøvepreparering. I tillegg bør alle *Mycobacterium sp.* behandles som BSL- 3

organismer inntil det er avkreftet at bakterier tilhører MTBC. Dermed er også inaktivering et viktig trinn i prøveprepareringen.

Det er publisert mange protokoller for inaktivering og prøvepreparering når man skal identifisere mykobakterier ved MALDI TOF MS, både for bakterier dyrket på fast medium og i flytende medium. Både MBT Biotyper og Vitek MS har MS databaser med de viktigste *Mycobacterium sp.* De har også IVD godkjent arbeidsflyt. Dette innebærer IVD godkjent inaktivering, proteinekstraksjon, instrumentinnstillinger og MS databaser. Disse bør følges hvis man ikke vil gjøre en betydelig validering av metoden.

Det er noe variasjon på grad av identifikasjon mellom ulike MALDI TOF MS systemer der noen systemer identifiserer til gruppe-/artskompleksnivå og andre til artsnivå. Det er et nasjonalt behov for standardisering av taksonomi og utsvaring.

De nyere MALDI TOF MS maskinene har mulighet til å danne spektre i positivt ione-modus. Dette gir mulighet til å analysere lipider i større grad. Det er publisert artikler der man ved hjelp av lipidprofiler har identifisert arter i *M. tuberculosis* komplekset.

REFERANSER

1. Alcaide F, Amlerová J, Bou G, Ceyssens PJ, Coll P, Corcoran D, Fangous MS, González-Álvarez I, Gorton R, Greub G, Hery-Arnaud G, Hrábak J, Ingebretsen A, Lucey B, Mareković I, Mediavilla-Gradolph C, Monté MR, O'Connor J, O'Mahony J, Opota O, O'Reilly B, Orth-Höller D, Oviaño M, Palacios JJ, Palop B, Pranada AB, Quiroga L, Rodríguez-Temporal D, Ruiz-Serrano MJ, Tudó G, Van den Bossche A, van Ingen J, Rodríguez-Sánchez B; European Study Group on Genomics and Molecular Diagnosis (ESGMD). How to: identify non-tuberculous Mycobacterium species using MALDI-TOF mass spectrometry. *Clin Microbiol Infect*. 2018 Jun;24(6):599-603. doi: 10.1016/j.cmi.2017.11.012. Epub 2017 Nov 22. PMID: 29174730.
2. Rodríguez-Temporal D, Rodríguez-Sánchez B, Alcaide F. Evaluation of MALDI Biotyper Interpretation Criteria for Accurate Identification of Nontuberculous Mycobacteria. *J Clin Microbiol*. 2020 Sep 22;58(10):e01103-20. doi: 10.1128/JCM.01103-20. PMID: 32719033; PMCID: PMC7512167.
3. Rodríguez-Temporal D, Zvezdánova ME, Benedí P, Marín M, Blázquez-Sánchez M, Ruiz-Serrano MJ, Muñoz P, Rodríguez-Sánchez B. Identification of Nocardia and non-tuberculous Mycobacterium species by MALDI-TOF MS using the VITEK MS coupled to IVD and RUO databases. *Microb Biotechnol*. 2023 Apr;16(4):778-783. doi: 10.1111/1751-7915.14146. Epub 2022 Dec 20. PMID: 36541026; PMCID: PMC10034632.
4. Strategimøte nr 30, 2016
Mykobakteriediagnostikk
<https://www.fhi.no/publ/strategimoter/strategimote-nr-30-2016-mykobakteriediagnostikk/>
5. WHO operational handbook on tuberculosis. Module 3: Diagnosis - Rapid diagnostics for tuberculosis detection, third edition [WHO operational handbook on tuberculosis: module 3: diagnosis: rapid diagnostics for tuberculosis detection, 3rd ed](#)
6. Bacanelli G, Araujo FR, Verbisck NV. Improved MALDI-TOF MS Identification of Mycobacterium tuberculosis by Use of an Enhanced Cell Disruption Protocol. *Microorganisms*. 2023 Jun 29;11(7):1692. doi: 10.3390/microorganisms11071692. PMID: 37512865; PMCID: PMC10386467.
7. Gonzalo X, Yrah S, Broda A, Laurenson I, Claxton P, Kostrzewa M, Drobniewski F, Larrouy-Maumus G. Performance of lipid fingerprint by routine matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight for the diagnosis of Mycobacterium tuberculosis complex species. *Clin Microbiol Infect*. 2023 Mar;29(3):387.e1-387.e6. doi: 10.1016/j.cmi.2022.10.017. Epub 2022 Oct 18. PMID: 36270589.
8. Rodríguez-Temporal D, Alcaide F, Mareković I, O'Connor JA, Gorton R, van Ingen J, Van den Bossche A, Héry-Arnaud G, Beauruelle C, Orth-Höller D, Palacios-Gutiérrez JJ, Tudó G, Bou G, Ceyssens PJ, Garrigó M, González-Martin J, Greub G, Hrabak J, Ingebretsen A, Mediavilla-Gradolph MC, Oviaño M, Palop B, Pranada AB, Quiroga L, Ruiz-Serrano MJ, Rodríguez-Sánchez B. Multicentre study on the reproducibility of MALDI-TOF MS for nontuberculous mycobacteria identification. *Sci Rep*. 2022 Jan 24;12(1):1237. doi: 10.1038/s41598-022-05315-7. PMID: 35075208; PMCID: PMC8786948.
9. Pastrone L, Curtoni A, Criscione G, Scaiola F, Bottino P, Guarrasi L, Iannaccone M, Timke M, Costa C, Cavallo R. Evaluation of Two Different Preparation Protocols for MALDI-TOF MS Nontuberculous Mycobacteria Identification from Liquid and Solid Media. *Microorganisms*. 2023 Jan 3;11(1):120. doi: 10.3390/microorganisms11010120. PMID: 36677412; PMCID: PMC9866535.

Sammendrag 12 Mykobakterier

Framtidig bruk av Maldi-TOF

Mulig utvikling for identifikasjon ved bruk av Maldi-TOF MS i laboratoriet

Forfatter: André Ingebretsen, Oslo universitetssykehus

FORSLAG TIL ANBEFALINGER (RØD SKRIFT = TIL DISKUSJON KONTROVERSIELLE)

ANBEFALING 1 – IVDR VIL PÅVIRKE MALDI TOF MS TIL KLINISK BRUK

IVDR vil påvirke alle deler av diagnostisk virksomhet, også bruk av MALDI TOF MS. Det er derfor viktig å sette seg inn i hvordan IVDR vil påvirke bruken av MALDI TOF MS til diagnostikk.

ANBEFALING 2 – BRUK AV MASKINLÆRING/KUNSTIG INTELLIGENS

Laboratoriene bør heve sin kompetanse på metoder og algoritmer for maskinlæring/kunstig intelligens som kan brukes i diagnostikk.

ANBEFALING 3 – NYERE MALDI TOF MS TEKNOLOGI

Laboratoriene bør følge utviklingen av MALDI TOF MS baserte metoder som f.eks. nukleotid MALDI TOF MS, MALDI Imaging og Lipidprofiling.

AVGRENSNINGER RELEVANTE PROBLEMSTILLINGER

Nåværende trendsettende metoder, men som er usikkert anvendt i fremtiden.

PROBLEMOMRÅDE 1

Bruk av MALDI TOF MS til identifikasjon av mikroorganismer har vært en revolusjon i medisinsk mikrobiologi. Videreutvikling av teknologien vil avhenge av hvilke data vi har behov for ved de mikrobiologiske laboratoriene og kostnadene knyttet til fremskaffelsen av disse data.

Det vil være behov for å raskt gjenkjenne sykdomsfremkallende mikroorganismer, gjerne med spesifikke resistens- og virulensmarkører. Det vil også være behov for artsidentifikasjon på stammenivå. Dette er data vi har behov for nå for å kunne tilfredsstille laboratorienes kjerneoppgaver; diagnostikk, smittevern og overvåkning. Videre kan det være at det i nær fremtid kan være behov for å karakterisere mikrobenes egenskaper nærmere og deres interaksjon med humane celler eller eksternt miljø. Her kan metabolemikk basert på MALDI TOF MS spille en sentral rolle.

MALDI TOF MS har et stort ubenyttet potensiale. Spektrene som produseres inneholder mer data enn det vi benytter i dag. Maskinlæring og kunstig intelligens kan tilgjengeliggjøre disse data. Likeledes kan utvidelse og konstruksjon av større MS databaser gi oss mer data.

Sentrale punkter i den videre utviklingen av MALDI TOF MS teknologien:

- Flere leverandører av MALDI TOF MS systemer med ulike egenskaper
- De større selskapene vil IVD godkjenne alle prosesser rundt deres produkt slik at brukere blir mer bundet til en leverandør og låste systemer.
- Utvikling av nettbaserte databaser som ligner NCBI sine genomdatabaser basert på både proteiner og lipider. Muligens også andre biomolekyler.
- Bruk av maskinlæring og kunstig intelligens for å tilgjengeliggjøre data som ligger i spektrene, men som vi ikke benytter nå.
- MALDI TOF MS rolle i persontilpasset medisin dvs. i grensesnittet mellom mikrobiologi og patologi. Her kan MALDI Imaging spille en sentral rolle ved å visualisere samspill mellom mikroorganismer og humane celler.

REFERANSER

1. DeCurtis EK, Machado I, Kuss-Duerkop SK, Wang Y, Khare R. MALDI-TOF mass spectrometry from nucleic acid: development and evaluation of a novel platform for identification of mycobacteria and detection of genetic markers of resistance. *Microbiol Spectr*. 2024 Aug 27:e0163824. doi: 10.1128/spectrum.01638-24. Epub ahead of print. PMID: 39189753.
2. Jiang L, Xin J, Liang L, Xia M, Li J, Tong J, Huang C, Li T. Enhanced diagnosis of pulmonary tuberculosis through nucleotide MALDI-TOF MS analysis of BALF: a retrospective clinical study. *Sci Rep*. 2024 Aug 8;14(1):18416. doi: 10.1038/s41598-024-66178-8. PMID: 39117658; PMCID: PMC11310484.
3. Rodríguez-Temporal D, Herrera L, Alcaide F, Domingo D, Héry-Arnaud G, van Ingen J, Van den Bossche A, Ingebretsen A, Beauruelle C, Terschlüsen E, Boarbi S, Vila N, Arroyo MJ, Méndez G, Muñoz P, Mancera L, Ruiz-Serrano MJ, Rodríguez-Sánchez B. Identification of *Mycobacterium abscessus* Subspecies by MALDI-TOF Mass Spectrometry and Machine Learning. *J Clin Microbiol*. 2023 Jan 26;61(1):e0111022. doi: 10.1128/jcm.01110-22. Epub 2023 Jan 5. PMID: 36602341; PMCID: PMC9879094.
4. Godmer A, Gai Gianetto Q, Le Neindre K, Latapy V, Bastide M, Ehmig M, Lalande V, Veziris N, Aubry A, Barbut F, Eckert C. Contribution of MALDI-TOF mass spectrometry and machine learning including deep learning techniques for the detection of virulence factors of *Clostridioides difficile* strains. *Microb Biotechnol*. 2024 Jun;17(6):e14478. doi: 10.1111/1751-7915.14478. PMID: 38850267; PMCID: PMC11162102.
5. Weis C, Cuénod A, Rieck B, Dubuis O, Graf S, Lang C, Oberle M, Brackmann M, Søggaard KK, Osthoff M, Borgwardt K, Egli A. Direct antimicrobial resistance prediction from clinical MALDI-TOF mass spectra using machine learning. *Nat Med*. 2022 Jan;28(1):164-174. doi: 10.1038/s41591-021-01619-9. Epub 2022 Jan 10. PMID: 35013613.
6. Dematheis F, Walter MC, Lang D, Antwerpen M, Scholz HC, Pfalzgraf MT, Mantel E, Hinz C, Wölfel R, Zange S. Machine Learning Algorithms for Classification of MALDI-TOF MS Spectra from Phylogenetically Closely Related Species *Brucella melitensis*, *Brucella abortus* and *Brucella suis*. *Microorganisms*. 2022 Aug 17;10(8):1658. doi: 10.3390/microorganisms10081658. PMID: 36014076; PMCID: PMC9416640.
7. Yu J, Lin HH, Tseng KH, Lin YT, Chen WC, Tien N, Cho CF, Liang SJ, Ho LC, Hsieh YW, Hsu KC, Ho MW, Hsueh PR, Cho DY. Prediction of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* from flagged blood cultures by combining rapid Sepsityper MALDI-TOF mass spectrometry with machine learning. *Int J Antimicrob Agents*. 2023 Dec;62(6):106994. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2023.106994. Epub 2023 Oct 4. PMID: 37802231.
8. Pizzato J, Tang W, Bernabeu S, Bonnin RA, Bille E, Farfour E, Guillard T, Barraud O, Cattoir V, Plouzeau C, Corvec S, Shahrezaei V, Dortet L, Larrouy-Maumus G. Discrimination of *Escherichia coli*, *Shigella flexneri*, and *Shigella sonnei* using lipid profiling by MALDI-TOF mass spectrometry paired with machine learning. *Microbiologyopen*. 2022 Aug;11(4):e1313. doi: 10.1002/mbo3.1313. PMID: 36004556; PMCID: PMC9405496.
9. Manfredi E, Rocca MF, Zintgraff J, Irazu L, Miliwebsky E, Carbonari C, Deza N, Prieto M, Chinen I. Rapid and accurate detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) serotype O157:H7 by mass spectrometry directly from the isolate, using 10 potential biomarker peaks and machine learning predictive models. *J Med Microbiol*. 2023 May;72(5). doi: 10.1099/jmm.0.001675. PMID: 37130048.
10. Nachtigall FM, Pereira A, Trofymchuk OS, Santos LS. Detection of SARS-CoV-2 in nasal swabs using MALDI-MS. *Nat Biotechnol*. 2020 Oct;38(10):1168-1173. doi:

- 10.1038/s41587-020-0644-7. Epub 2020 Jul 30. Erratum in: Nat Biotechnol. 2020 Oct;38(10):1211. doi: 10.1038/s41587-020-0701-2. PMID: 32733106.
11. Normand AC, Chaline A, Mohammad N, Godmer A, Acherar A, Huguenin A, Ranque S, Tannier X, Piarroux R. Identification of a clonal population of *Aspergillus flavus* by MALDI-TOF mass spectrometry using deep learning. Sci Rep. 2022 Jan 28;12(1):1575. doi: 10.1038/s41598-022-05647-4. PMID: 35091651; PMCID: PMC8799650.
12. Zvezdanova ME, Arroyo MJ, Méndez G, Candela A, Mancera L, Rodríguez JG, Serra JL, Jiménez R, Lozano I, Castro C, López C, Muñoz P, Guinea J, Escribano P, Rodríguez-Sánchez B; ASPEIN group. Detection of azole resistance in *Aspergillus fumigatus* complex isolates using MALDI-TOF mass spectrometry. Clin Microbiol Infect. 2022 Feb;28(2):260-266. doi: 10.1016/j.cmi.2021.06.005. Epub 2021 Jun 17. PMID: 34147673.
13. Feucherolles M, Frache G. MALDI Mass Spectrometry Imaging: A Potential Game-Changer in a Modern Microbiology. Cells. 2022 Dec 2;11(23):3900. doi: 10.3390/cells11233900. PMID: 36497158; PMCID: PMC9738593.
14. Kuik C, van Hoogstraten SWG, Arts JJC, Honing M, Cillero-Pastor B. Matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry imaging for quorum sensing. AMB Express. 2024 Apr 25;14(1):45. doi: 10.1186/s13568-024-01703-6. PMID: 38662284; PMCID: PMC11045684.

VEDLEGG: Påmeldte deltakere

Påmeldt til fysisk deltakelse

Representanter

	Lab	Navn	Andre roller	Oppmøte
1	Førde	Elisabeth Sirnes		X
2	Unilabs	Kristina Papp		Ikke møtt
3	Drammen	Maria Mathisen		Ikke møtt
4	Bodø	Sandra Åsheim		X
5	Østfold	Anja D. Guleng		X
6	Tromsø	Karina Olsen		X
7	Fürst	Trond E. Ranheim		X
8	Ullevål	Nils O. Hermansen Erstattet av Hanne Brekke (observatør)		Ikke møtt X
9	St. Olav	Maria S. Haugan		X
10	Vestfold	Heidi C. Villmones		X
11	Haukeland	Dag H. Skutlaberg		X
12	Bærum	Annette Onken		X
13	Ahus	Kirsten B. Strand		X
14	Haugesund	Liv J. Hafne		X
15	Innlandet	Hanne T. Vestergaard		Ikke møtt
16	Rikshospitalet	Jørgen V. Bjørnholdt	Innleder	X
17	Sørlandet	Ståle Tofteland	Programkomiteleder	X
18	Stavanger	Aasmund Fostervold	Innleder	X
19	Molde	Ida Sletteberg	Innleder	X

Observatører

	Lab	Navn	Oppmøte
20	FML	Einar Tollaksen Weme	X
21	FHI	Jan Himmels	X
22	Fürst	Lena I. Kristensen	X
23	Tromsø	Lisbeth E. Mortensen	X
24	St. Olav	Sveinung Javnes	X
25	Ullevål	Hanne Brekke	Erstattet Nils O. Hermansen som representant
26	Bærum	Nadine D. Pullar	Ikke møtt
27	Kvalitetsutvalg et, NFMM	Mina Ø. Høie	X
28	Drammen	Ane Aasmo Finne	X

Andre

	Lab	Navn	Rolle	Oppmøte
29	St. Olav	Aleksandra Jakovljevic	Innleder	X
30	St. Olav	Kjersti Wiik Larsen	Innleder, programkomite, ref.gr.	X
31	Ahus	Truls Leegaard	Innleder	X
32	FHI	Anne T. Mengshoel	Innleder, ref.gr	X
33	Vestfold	Tore T. Stubhaug	Innleder	X
34	Haukeland	Torbjørn S. Bruvold	Innleder	X
35	Haukeland	Øyvind Kommedal	Innleder, programkomite	X
36	OUS	Cecilie T. Andersen	Innleder	X
37	Østfold	Anita Kanestrøm	Innleder	X
38	OUS	Andre Ingebretsen	Innleder, programkomite	X
39	Bodø	Therese Johansen	Programkomite	X
40	Stavanger	Heidi Syre	Ref.gr.	X
41	FHI	Caroline V. Knudsen	Programkomite, ref.gr.	X
42	FHI	Polina Katsioulari	Ref.gr.	X
43	FHI	Kjersti Hage	Medhjelper	X
44	FHI	Zoey Drageset	Medhjelper	X

Påmeldt til digital representasjon

Ingen

Påmeldt til digital observasjon*

Anne-Marthe Urdal Sand	OUS, Rikshospitalet
Sissel Grønvold	Først Medisinsk Laboratorium
Erik Hansen Aslaksen	Sykehuset i Vestfold
Thea Anette Andersen	Først medisinsk laboratorium
Livelin Melvik-Styles	Sørlandet sykehus Kristiansand
Cathrine Mørch	Unilabs laboratoriemedisin
Eldbjørg Storhov Elisenberg	Mikrobiologi, Sykehuset Innlandet
Kjerstin Pedersen Manvik	Unilabs laboratoriemedisin
Ida Engstrøm Odlo	Avd. for medisinsk mikrobiologi, Sykehuset Innlandet HF
Ghantous Milad Chedid	Medisinsk Mikrobiologi, Haugesund sykehus
Kristine Karlsrud Berg	Sørlandet sykehus Kristiansand
Ruben Dyrhovden	Haukeland Universitetssjukehus
Arne Martin Slåtsve	Nordlandssykehuset

* reelt antall var høyere, siden lenke til møtet kunne deles til andre ved samme laboratorium

VEDLEGG: Spørreundersøkelse sendt ut i forkant av møtet

SPØRREUNDERSØKELSE FORUT FOR STRATEGIMØTET I BAKTERIOLOGI 2024 IDENTIFIKASJON AV BAKTERIER OG SOPP MED HOVEDFOKUS PÅ IDENTIFIKASJON VHA. MALDI-TOF MS.

For Programkomiteen

Ståle Tøfteland

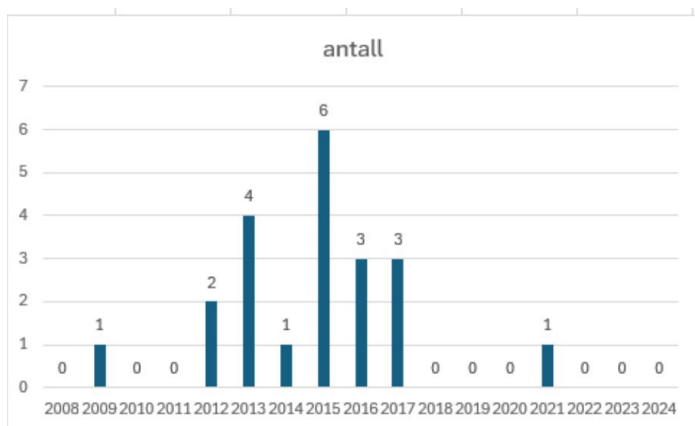
Kristiansand, okt 2024

Samlet status for svarrapportering på spørreskjemaet

Så nær 100% deltakelse som man kan komme.
20/21 har komplette svar
1/21 labber har kun unnlatt å være på et delspørsmål.
Alle svar, inkl de som er gitt av den ene labben som ikke helt har fullført, teller med.

Maldi-Tof MS instrumentering:

Hvilket år startet dere opp med Maldi-TOF MS identifikasjon som en rutinediagnostikk i din lab?

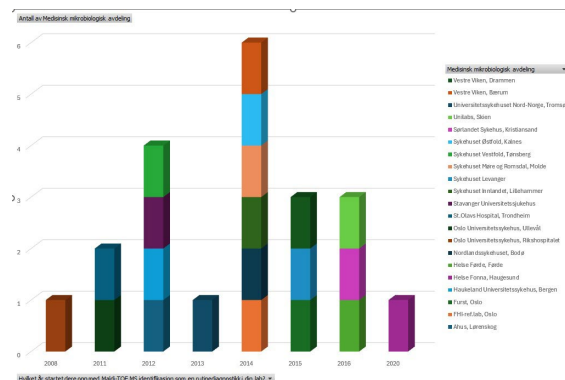
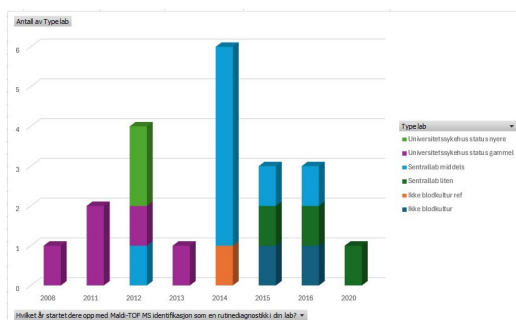


Alle har Maldi-Tof instrument, 20/21 har Bruker instrument.

Del 2 - Innleggene/Bakgrunnsinformasjon

Medisinsk mikrobiologisk avdeling	Type lab
Stavanger Universitetssykehus	Universitetssykehus status nyere
Ahus, Lørenskog	Universitetssykehus status nyere
Oslo Universitetssykehus, Rikshospitalet	Universitetssykehus status gammel
Oslo Universitetssykehus, Ullevål	Universitetssykehus status gammel
Haukeland Universitetssykehus, Bergen	Universitetssykehus status gammel
St.Olavs Hospital, Trondheim	Universitetssykehus status gammel
Universitetssykehuset Nord-Norge, Tromsø	Universitetssykehus status gammel
Sykehuset Møre og Romsdal, Molde	Sentrallab middels
Sørlandet Sykehus, Kristiansand	Sentrallab middels
Sykehuset Innlandet, Lillehammer	Sentrallab middels
Vestre Viken, Drammen	Sentrallab middels
Sykehuset Østfold, Kalnes	Sentrallab middels
Sykehuset Vestfold, Tønsberg	Sentrallab middels
Nordlandssykehuset, Bodø	Sentrallab middels
Vestre Viken, Bærum	Sentrallab middels
Helse Førde, Førde	Sentrallab liten
Sykehuset Levanger	Sentrallab liten
Helse Fonna, Haugesund	Sentrallab liten
FHI-ref.lab, Oslo	Ikke blodkultur ref
Furst, Oslo	Ikke blodkultur
Unilabs, Skien	Ikke blodkultur

Maldi-Tof MS instrumentering



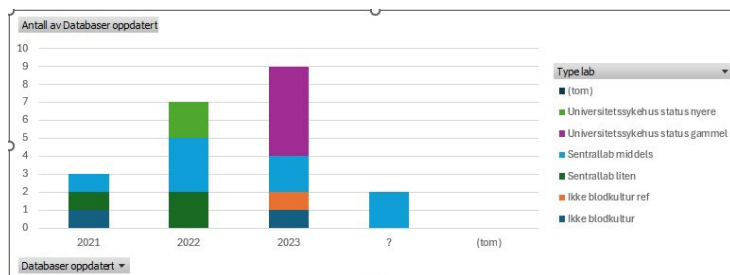
Antall instrumenter per sykehus (n=21)



Type lab	Oppstart rutine	Maskiner oppsummert	Antall	Anskaffelser bruk kassering
Universitetssykehus status nyere	2012	BM Bsi	2	BM 2012 Bsi 2022
Universitetssykehus status nyere	2012	Bsi BSm	2	BM 2012-23, BSm 2020, Bsi 2022
Universitetssykehus status gammel	2008	BSm	1	BM 2008
Universitetssykehus status gammel	2011	2 BM	2	BM 2011 BSm 2019
Universitetssykehus status gammel	2012	Bm Bsi	2	BM 2012-24 BM 2014 Bsi 2023
Universitetssykehus status gammel	2011	Bm Bsi	2	BM 2011-21 BM 2013 BSi 2021
Universitetssykehus status gammel	2013	BSi BM	2	Bsm 2013 BM 2018
Sentrallab middels	2014	Vitek MS (1+1)	2	2 V 2014
Sentrallab middels	2016	BM	1	1 BM
Sentrallab middels	2014	BM Bsi	2	BM 2014 Bsi 2023
Sentrallab middels	2015	BM BSm	2	BM 2015 BSm 2021
Sentrallab middels	2014	BM Bsi	2	BM 2014 BSi 2020
Sentrallab middels	2012	2 BM	2	BM 2012 BM 2019
Sentrallab middels	2014	BM	1	BM 2014
Sentrallab middels	2014	BM	1	BM 2014
Sentrallab liten	2016	Bm BSi	2	BM 2016 BSi 2022
Sentrallab liten	2015	BM	1	BM 2015 BSm 2021
Sentrallab liten	2020	2 BSi	2	BSi 2020 BSi 2021
Ikke blodkultur ref	2014	BM	1	BM 2014
Ikke blodkultur	2015	BM BSi	2	BM 2015 BSi 2022
Ikke blodkultur	2016	BM	2	BM 2016 BSi 2024

BM = Microflex-modell, BSi = Sirius, BSm = Smart

Siste databaseoppdatering - år



Type SH/År:	2021	2022	2023	?
Ikke blodkultur	1		1	
Ikke blodkultur ref			1	
Sentrallab liten	1	2		
Sentrallab middels	1	3	2	2
Universitetssykehus status gammel			5	
Universitetssykehus status nyere		2		
	3	7	9	2

På rapporteringstidpunktet brukte ca. ½ parten av laboratoriene siste år databaseoppdatering, mens resten brukte eldre versjoner

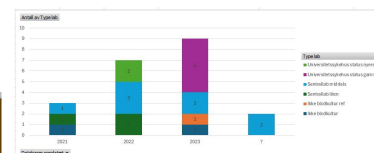
Bruk av andre databaser

	MSI database	CDC microbenet
RH, Riks	1	1
HUS	1	0
St.Olavs	1	0

Type lab	Medisinsk mikrobiologisk avdeling	Hvilket år startet dere opp med Maldi-TOF MS identifikasjon som en rutinediagnose tikk i din lab	Maskiner oppsummert	Antall	Anskaffelser bruk kassering
Universitetssykehus status nyere	Stavanger Universitetssjukehus	2012	BM Bsi	2	BM 2012 Bsi 2022
Universitetssykehus status nyere	Ahus, Lørenskog	2012	Bsi BSm	2	BM 2012-23, BSm 2020, Bsi 2022
Universitetssykehus status gammel	Universitetssykehuset Nord-Norge, Tromsø	2013	BSi BM	2	BSm 2013 BM 2018
Universitetssykehus status gammel	St.Olavs Hospital, Trondheim	2011	Bm Bsi	2	BM 2011-21 BM 2013 BSi 2021
Universitetssykehus status gammel	Haukeland Universitetssykehus, Bergen	2012	Bm Bsi	2	BM 2012-24 BM 2014 Bsi 2023
Universitetssykehus status gammel	Oslo Universitetssykehus, Rikshospitalet	2008	BSm	1	BM 2008
Universitetssykehus status gammel	Oslo Universitetssykehus, Ullevål	2011	2 BM	2	BM 2011 BSm 2019
Sentrallab middels	Nordlandssykehuset, Bodø	2014	BM	1	BM 2014
Sentrallab middels	Sykehuset Møre og Romsdal, Molde	2014	Vitek MS (1+1)	2	2 V 2014
Sentrallab middels	Sørlandet Sykehus, Kristiansand	2016	BM	1	1 BM
Sentrallab middels	Sykehuset Vestfold, Tønsberg	2012	2 BM	2	BM 2012 BM 2019
Sentrallab middels	Vestre Viken, Drammen	2015	BM BSm	2	BM 2015 BSm 2021
Sentrallab middels	Vestre Viken, Bærum	2014	BM	1	BM 2014
Sentrallab middels	Sykehuset Innlandet, Lillehammer	2014	BM Bsi	2	BM 2014 Bsi 2023
Sentrallab middels	Sykehuset Østfold, Kalnes	2014	BM Bsi	2	BM 2014 BSi 2020
Sentrallab liten	Sykehuset Levanger	2015	BM	1	BM 2015 BSm 2021
Sentrallab liten	Helse Førde, Førde	2016	Bm BSi	2	BM 2016 BSi 2022
Sentrallab liten	Helse Fonna, Haugesund	2020	2 BSi	2	BSi 2020 BSi 2021
Ikke blodkultur ref	FHI-ref.lab, Oslo	2014	BM	1	BM 2014
Ikke blodkultur	Unilabs, Skien	2016	BM	1	BM 2016 BSi 2024
Ikke blodkultur	Furst, Oslo	2015	BM BSi	1	

Del 2 - Innleggene/Bakgrunnsinformasjon

Type lab	Oppstart rutine	Maskiner oppsummert	Antall	Anskaffeler bruk kassering
Universitetssykehus status nyere	2012	BM Bsi	2	BM 2012 Bsi 2022
Universitetssykehus status nyere	2012	Bsi BSm	2	BM 2012-23, BSm 2020, Bsi 2022
Universitetssykehus status gammel	2008	BSm	1	BM 2008
Universitetssykehus status gammel	2011	2 BM	2	BM 2011 BSm 2019
Universitetssykehus status gammel	2012	Bm Bsi	2	BM 2012-24 BM 2014 Bsi 2023
Universitetssykehus status gammel	2011	Bm Bsi	2	BM 2011-21 BM 2013 BSi 2021
Universitetssykehus status gammel	2013	BSi BM	2	Bsm 2013 BM 2018
Sentrallab middels	2014	Vitek MS (1+1)	2	2 v 2014
Sentrallab middels	2016	BM	1	1 BM
Sentrallab middels	2014	BM Bsi	2	BM 2014 Bsi 2023
Sentrallab middels	2015	BM BSm	2	BM 2015 BSm 2021
Sentrallab middels	2014	BM Bsi	2	BM 2014 BSi 2020
Sentrallab middels	2012	2 BM	2	BM 2012 BM 2019
Sentrallab middels	2014	BM	1	BM 2014
Sentrallab middels	2014	BM	1	BM 2014
Sentrallab liten	2016	Bm BSi	2	BM 2016 BSi 2022
Sentrallab liten	2015	BM	1	BM 2015 BSm 2021
Sentrallab liten	2020	2 BSi	2	BSi 2020 BSi 2021
Ikke blodkultur ref	2014	BM	1	BM 2014
Ikke blodkultur	2015	BM BSi	2	BM 2015 BSi 2022
Ikke blodkultur	2016	BM	2	BM 2016 BSi 2024

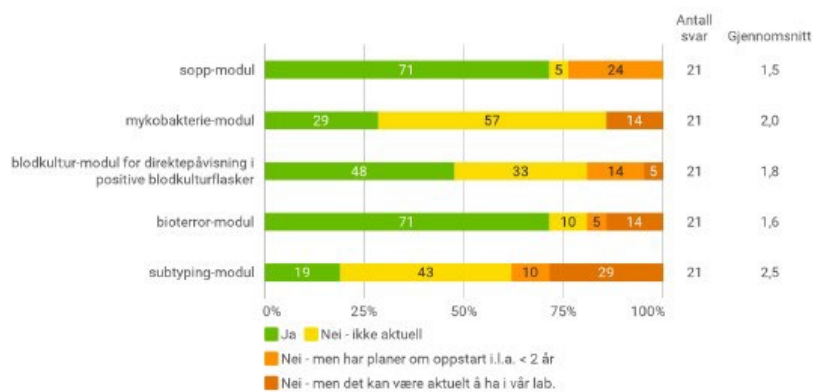


Type lab	Hvilket år startet dere opp med Maldi-TOF MS identifikasjon som en rutinediagnose i din lab	Maskiner oppsummert	Antall	Anskaffeler bruk kassering	Databaser	Databaser oppdatert
Universitetssykehus status nyere	2012	BM Bsi	2	BM 2012 Bsi 2022	MBT Compass Library Revision K (2022)	2022
Universitetssykehus status nyere	2012	Bsi BSm	2	BM 2012-23, BSm 2020, Bsi 2022	MaldiBiotyperDBUpdate_V12.0.0.0_10833-11897(RUO), År 2022	2022
Universitetssykehus status gammel	2013	BSi BM	2	Bsm 2013 BM 2018	MaldiBiotyperDB-V13.0.0.2,12438 MSP (ROU), År 2023	2023
Universitetssykehus status gammel	2011	Bm Bsi	2	BM 2011-21 BM 2013 BSi 2021	MaldiBiotyperDB-V13.0.0.2,12438 MSP (ROU), År 2023	2023
Universitetssykehus status gammel	2012	Bm Bsi	2	BM 2012-24 BM 2014 Bsi 2023	MaldiBiotyperDB-V13.0.0.2,12438 MSP (ROU), År 2023	2023
Universitetssykehus status gammel	2008	BSm	1	BM 2008	MaldiBiotyperDB-V12.0.0.0_10833-11897(RUO), År 2023	2023
Universitetssykehus status gammel	2011	2 BM	2	BM 2011 BSm 2019	MaldiBiotyperDB-V12.0.0.0_10833-11897(RUO), År 2023	2023
Sentrallab middels	2014	BM	1	BM 2014	VITEK MS V3.2 FDA §10(k) (IVD) i mølde og Ålesund	?
Sentrallab middels	2014	Vitek MS (1+1)	2	2 v 2014	MaldiBiotyperDB-V13.0.0.2,12438 MSP (ROU), År 2023	2023
Sentrallab middels	2016	BM	1	1 BM	MaldiBiotyperDB-V13.0.0.2, 12438 MSP (ROU), År 2023.	2023
Sentrallab middels	2012	2 BM	2	BM 2012 BM 2019	MaldiBiotyperDB-V12.0.0.0_10694-11758.7	?
Sentrallab middels	2015	BM BSm	2	BM 2015 BSm 2021	MaldiBiotyperDBUpdate_V12.0.0.0_10833-11897(RUO), År 2022	2022
Sentrallab middels	2014	BM	1	BM 2014	MaldiBiotyperDBUpdate_V12.0.0.0_10833-11897(RUO), År 2022	2022
Sentrallab middels	2014	BM Bsi	2	BM 2014 Bsi 2023	MaldiBiotyperDBUpdate_V12.0.0.0_10833-11897(RUO), År 2022	2022
Sentrallab middels	2014	BM Bsi	2	BM 2014 BSi 2020	MaldiBiotyper DB V.11., MSP 10833, År 2021	2021
Sentrallab liten	2015	BM	1	BM 2015 BSm 2021	MaldiBiotyperDBUpdate_V12.0.0.0_10833-11897(RUO), År 2022	2022
Sentrallab liten	2016	Bm BSi	2	BM 2016 BSi 2022	MaldiBiotyperDBUpdate_V12.0.0.0_10833-11897(RUO), År 2022	2022
Sentrallab liten	2020	2 BSi	2	BSi 2020 BSi 2021	MaldiBiotyper DB V.11., MSP 10833, År 2021	2021
Ikke blodkultur ref	2014	BM	1	BM 2014	MaldiBiotyperDB-V13.0.0.2,12438 MSP (ROU), År 2023	2023
Ikke blodkultur	2016	BM	1	BM 2016 BSi 2024	MBT IVD Library Extension_en_RevB 2019	2023
Ikke blodkultur	2015	BM BSi	1		MaldiBiotyper DB V.11., MSP 10833, År 2021	2021

Tilvalgsmoduler

Hvilke tilvalgsmoduler bruker dere i deres avdeling?

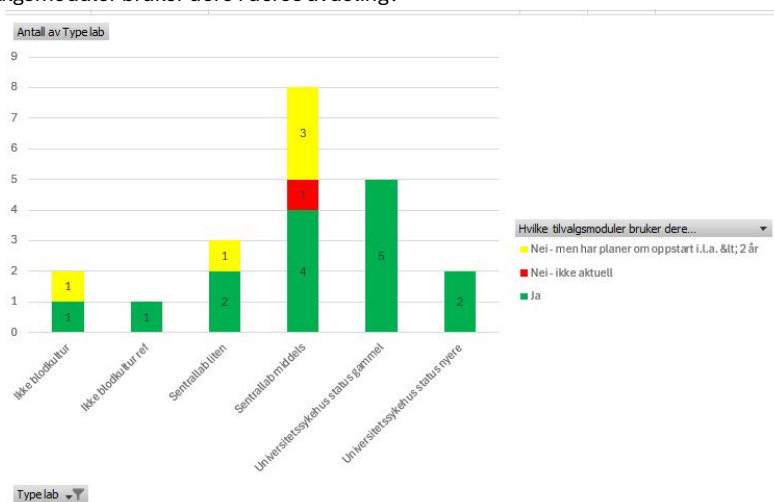
ALLE



Tilvalgsmoduler

Hvilke tilvalgsmoduler bruker dere i deres avdeling?

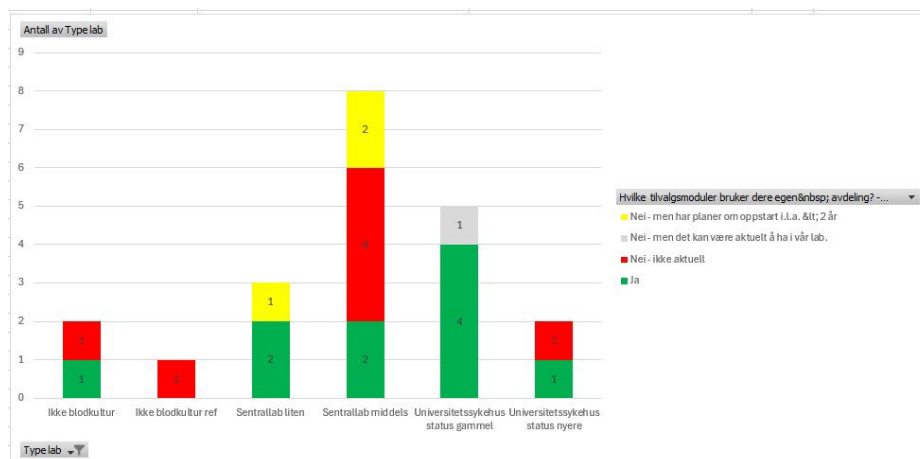
SOPP



Tilvalgsmoduler

Hvilke tilvalgsmoduler bruker dere i deres avdeling?

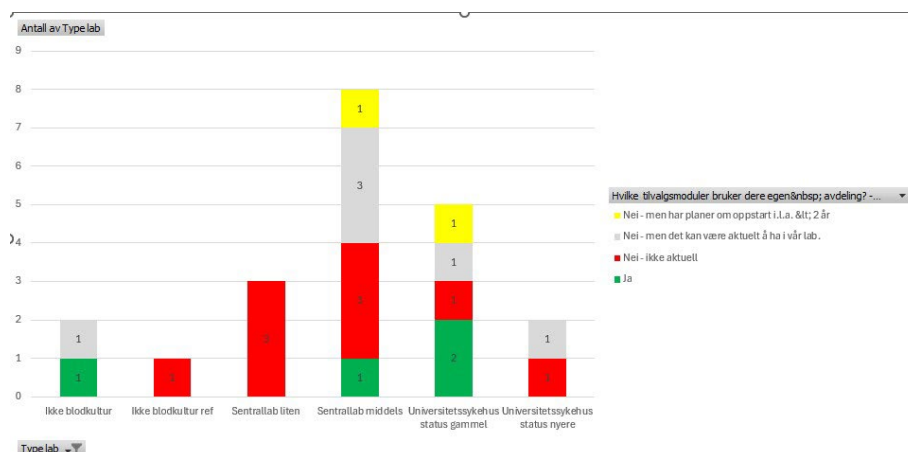
MODUL FOR BLODKULTUR DIREKTE



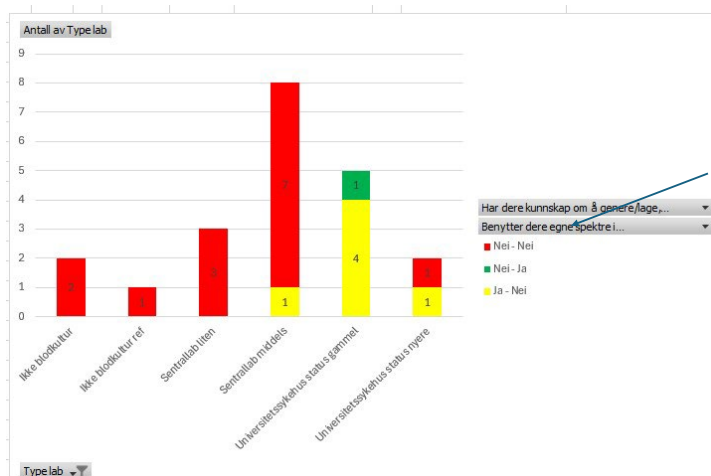
Tilvalgsmoduler

Hvilke tilvalgsmoduler bruker dere i deres avdeling?

SUBTYPINGS-MODUL



Bruk av egne spektre

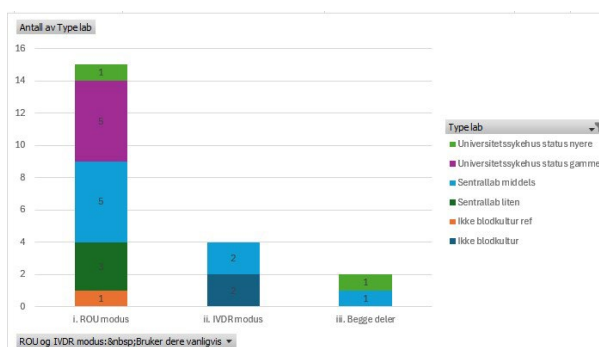


Grønn: Bruker egne spektre i rutinen
 Gul: har kunnskapen til genere, men bruker ikke i rutine
 Rød: Har verken kunnskap om eller bruker i rutinen

Behov når databasene blir bedre og bedre?
 Behov når IVDR benyttes?

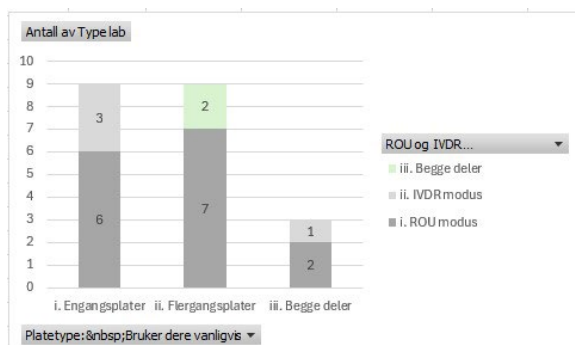
ROU vs IVDR

	i. ROU modus	ii. IVDR modus	iii. Begge deler
Ikke blodkultur		2	
Ikke blodkultur ref	1		
Sentrallab liten	3		
Sentrallab middels	5	2	1
Universitetssykehus status gammel	5		
Universitetssykehus status nyere	1		1
	15	4	2



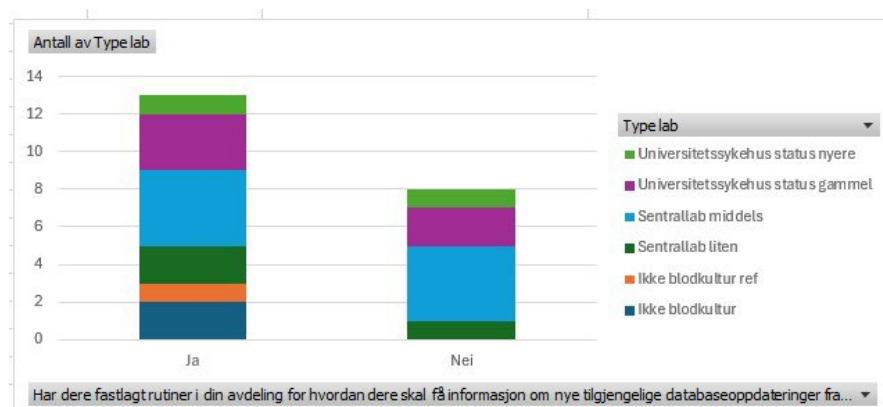
Kvalitetskontroll

Engangs- vs. flergangsplater



	i. Engangsplater	ii. Flergangsplater	iii. Begge deler
i. ROU modus	6	7	2
ii. IVDR modus	3	0	1
iii. Begge deler	0	2	0
	9	9	3

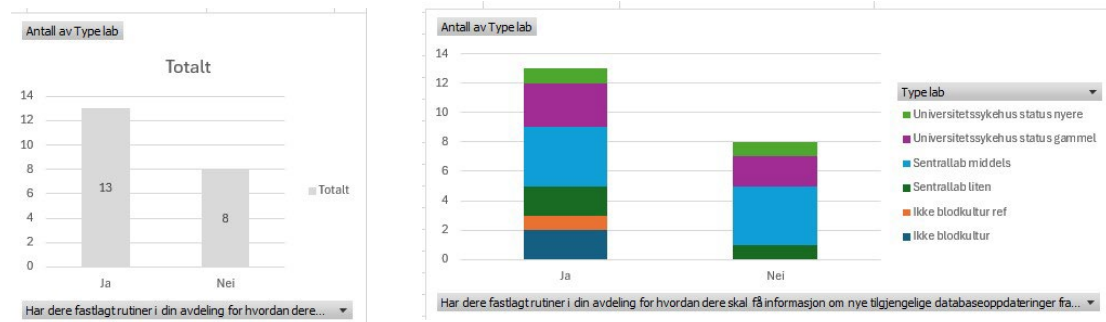
Har dere fastlagt rutiner i din avdeling for hvordan dere skal få informasjon om nye tilgjengelige databaseoppdateringer fra instrument-leverandøren?



	Ja	Nei	Vet ikke
Har dere fastlagt rutiner i din avdeling for hvordan dere skal få informasjon om nye tilgjengelige databaseoppdateringer fra instrument-leverandøren?	13	8	0
Har dere fastlagte rutiner for implementering av leverandørens databaseoppdateringer internt i din avdeling? (Inklusiv informasjon til de som benytter instrumentet).	16	3	2

Del 2 - Innleggene/Bakgrunnsinformasjon

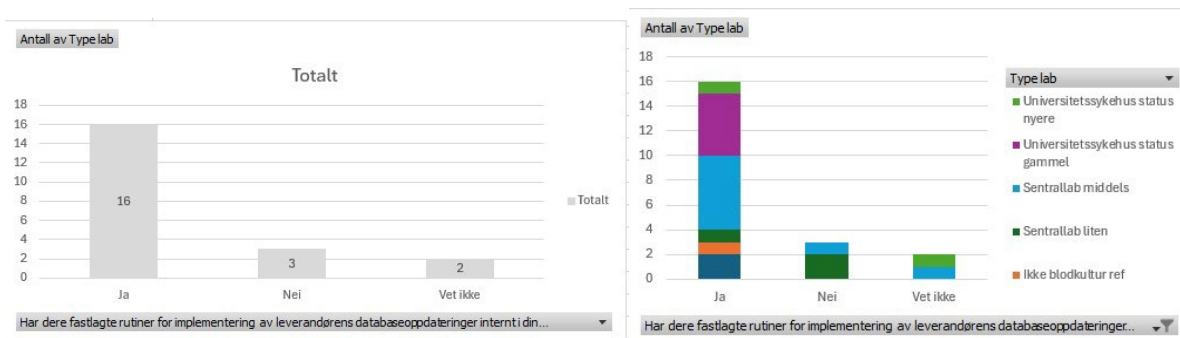
Har dere fastlagt rutiner i din avdeling for hvordan dere skal få informasjon om nye tilgjengelige databaseoppdateringer fra instrument-leverandøren?



Har dere fastlagt rutiner i din avdeling for hvordan dere skal få informasjon om nye tilgjengelige databaseoppdateringer fra instrument-leverandøren?	Ev kommentarer
Ja	Kommer via de regelmessige servicebesøkene
Nei	
Ja	
Nei	
Ja	
Nei	Vi oppdaterer ved behov når vi får informasjon om at ny database er tilgjengelig.
Ja	Oppdateres 1 gang pr. år ved årlig PM.
Ja	Vi får regelmessig oppdateringer/mail med change-logs. Både på forhånd og etter installasjon.
Nei	Leverandør oppdaterer i fm sitt årlige vedlikehold. Ingen informasjon fra dem om oppdateringer utover dette.
Ja	Vi får varsel på e-post fra Bruker ved databaseoppdatering.
Nei	
Ja	
Ja	Får informasjon fra leverandør.
Nei	Oppdateringer gjøres i forbindelse med service 1 gang/år dersom det finnes nye databaseoppdateringer
Nei	
Ja	
Nei	
Ja	Ny versjon av bibliotek lastes ned av leverandør ved PM.
Ja	Utføres på årlig service
Ja	
Ja	

Del 2 - Innleggene/Bakgrunnsinformasjon

Har dere fastlagte rutiner for implementering av leverandørens databaseoppdateringer internt i din avdeling? (Inklusiv informasjon til de som benytter instrumentet).



	Ja	Nei	Vet ikke
Har dere fastlagt rutiner i din avdeling for hvordan dere skal få informasjon om nye tilgjengelige databaseoppdateringer fra instrument-leverandøren?	13	8	0
Har dere fastlagte rutiner for implementering av leverandørens databaseoppdateringer internt i din avdeling? (Inklusiv informasjon til de som benytter instrumentet).	16	3	2

Har dere fastlagte rutiner for implementering av leverandørens databaseoppdateringer internt i din avdeling? (Inklusiv informasjon til de som benytter instrumentet). Knøsp.	Ev kommentarer:
Ja	
Vet ikke	
Ja	
Ja	
Ja	Via informasjonsmater og distribuering av Release notes. Release notes legges ut i kvalitetssystemet
Ja	Ja, spesielt oppdaterer vi "Matching hints" som alle bruker. Vi informerer også alle som benytter Maldi-ToF om evt nye funksjoner osv.
Vet ikke	Firma utfører hele oppgraderingen når vi blir enige om at det skal skje.
Ja	
Ja	Har egen prosedyre for svarutgivelse fra Maldi-ToF. Prosedyren redigeres etter databaseoppdatering. Release notes sendes ut til alle på laboratoriet etter databaseoppdatering.
Nei	
Ja	
Ja	Fagansvarlig gjennomgår endringene.
Ja	
Ja	Servicetekniker spør om vi vil oppdatere.
Nei	
Nei	
Ja	Ny versjon av bibliotek lastes ned av leverandør ved PM. Denne installeres av lab etter gjennomgang av ny versjon og oppdatering av laboratoriesystem.
Ja	Utføres på årlig service
Ja	
Ja	

Del 2 - Innleggene/Bakgrunnsinformasjon

	Ja	Nei	Vet ikke
Har dere fastlagt rutiner i din avdeling for hvordan dere skal få informasjon om nye tilgjengelige databaseoppdateringer fra instrument-leverandøren?	13	8	0
Har dere fastlagte rutiner for implementering av leverandørens databaseoppdateringer internt i din avdeling? (Inklusiv informasjon til de som benytter instrumentet).	16	3	2

Inokulering

	Ja	Nei	Vet ikke
Utfører dere automatisk spot-inokulering av plater?	1	20	0
Planlegger dere en slik automatisering?	6	10	4

Krav til kvalitetskontroll

	Bruker dere QC ved	Bruker dere internkontroller ved
Oppdatering av databaser	14	15
Bytte av reagenser	11	8
Bytte av plater	5	6
Hvert oppsett	7	9

Har dere internt nedskrevne prosedyrer for godkjenning av en identifikasjon utført med Maldi-TOF MS metoden (med bruk av score, ranking, konsistens/consistency)?

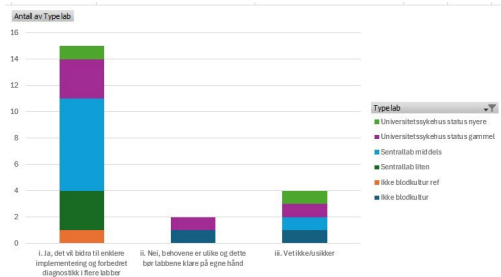
	Ja	Nei
Har dere internt nedskrevne prosedyrer for godkjenning av en identifikasjon utført med Maldi-TOF MS metoden (med bruk av score, ranking, konsistens/consistency)?	19	2

Del 2 - Innleggene/Bakgrunnsinformasjon

Bør de kliniske mikrobiologiske avdelingene sammen etablere en nasjonal arbeidsgruppe for identifikasjon/massepektrometri som arbeider med å:
- formidle **metodeutvikling** og **kvalitetssikring**
- gjennom **undervisning/kurs** og
- **publisering av anbefalinger** (kontinuertlig/ved behov/årlig/regelmessig,...)

Hvilket utsagn passer best?

Hvilket utsagn passer best?	Antall
I. Ja, det vil bidra til enklere implementering og forbedret diagnostikk i flere labber	15
II. Nei, behovene er ulike og dette bør labbene klare på egne hånd	2
III. Vet ikke/usikker	4

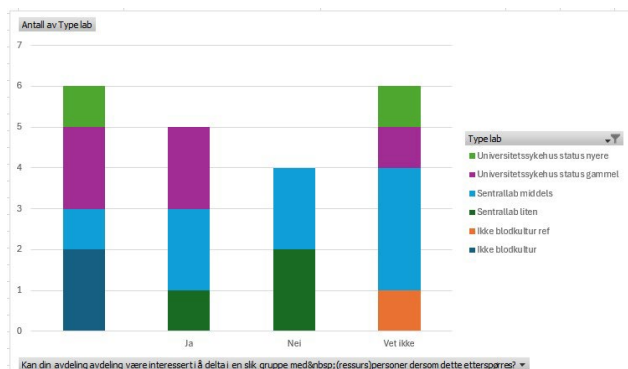


Bør de kliniske mikrobiologiske avdelingene sammen etablere en nasjonal arbeidsgruppe for identifikasjon/massepektrometri som arbeider med å:

Har dere noen kommentarer?
Nytten må veies opp mot tidsbruk.
Er mere opptatt av harmonisering anvendt nomenklatur/klassifikasjon
Hele spørreundersøkelsen bærer preg av at alle bruker Biotyper-system. For oss som bruker Vitek MS er dette ofte lite relevante problemstillinger.
Kurs i hvordan implementere egne spektre ville vært nyttig.

Kan din avdeling være interessert i å delta i en slik gruppe med (ressurs)personer dersom dette etterspørres?

	Antall
Ja	5
Nei	4
Vet ikke	6
Tomme/ikke svart	6



Kan din avdeling være interessert i å delta i en slik gruppe med (ressurs)personer dersom dette etterspørres?

KLINISK SVARRAPPORTERING

Har dere etablert rutiner i lab for klinisk vurdering og betydning (= legeinvolvering) ved mottak og implementering av nye database-versjoner og databaseoppdateringer?

	Ja	I beskjeden grad	Nei
Har dere etablert rutiner i lab for klinisk vurdering og betydning (= legeinvolvering) ved mottak og implementering av nye database-versjoner og databaseoppdateringer?	10	8	3

Har dere skriftlige prosedyrer/dokumenter for klinisk svarrapportering av species og ev for gruppering av species?

Har dere faste rutiner for systematisk implementering av nye species i svarrapporteringen?

	Ja	Nei	I beskjeden grad	Vet ikke
Har dere etablert rutiner i lab for klinisk vurdering og betydning (= legeinvolvering) ved mottak og implementering av nye database-versjoner og databaseoppdateringer?	10	8	3	NA
Har dere skriftlige prosedyrer/dokumenter for klinisk svarrapportering av species og ev for gruppering av species?	18	3	NA	0
Har dere faste rutiner for systematisk implementering av nye species i svarrapporteringen?	11	10	NA	0

Del 2 - Innleggene/Bakgrunnsinformasjon

	Ja	Nei	I beskjeden grad	Vet ikke
Har dere etablert rutiner i lab for klinisk vurdering og betydning (= legeinvolvering) ved mottak og implementering av nye database-versjoner og databaseoppdateringer?	10	8	3	NA
Har dere skriftlige prosedyrer/dokumenter for klinisk svarrapportering av species og ev for gruppering av species?	18	3	NA	0
Har dere faste rutiner for systematisk implementering av nye species i svarrapporteringen?	11	10	NA	0

Har dere også en bevisst kommunikasjonsstrategi av endringene til kliniker/revirent?

Kommunikasjonsstrategi	
i. Ja, vi angir nytt funn, men angir samtidig tidligere navn (som kan være bedre kjent for kliniker) i en kortere eller lengre periode	17
v. Nei	3
iv. Ja, annen strategi*	1
*Ved enkelte prøver kommenterer vi nytt species navn for å gi bedre informasjon til revirenter.	

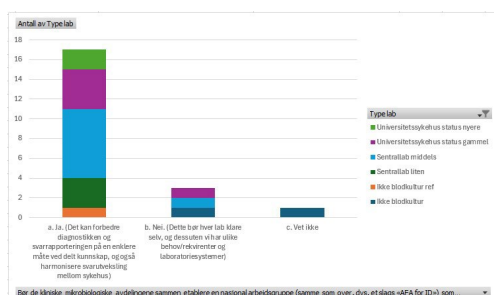
Bør de kliniske mikrobiologiske avdelingene sammen etablere en nasjonal arbeidsgruppe (samme som over, dvs. et slags «AFA for ID») som arbeider med å klinisk svarrapportering av mikrobefunn ved å:

- gi anbefalinger om en enhetlig og konsistent/robust måte å fase inn klinisk relevante nye mikrobenavn (pga. database-endringer og/eller taksonomiske endringer) på.
- gi anbefalinger om en ens strategi for informasjon til kliniker/revirenter om endringene (kommentarer, klinisk betydning, ev annen info, ...)
- publisere anbefalinger (kontinuerlig, ved behov/årlig/regelmessig...)

Hvilket utsagn er du/din avdeling mest (trenger ikke passe 100%) enig:

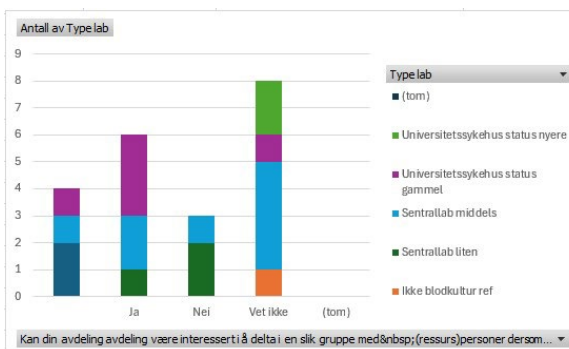
Hvilket utsagn er du/din avdeling mest enig i?	Antall
a. Ja. (Det kan forbedre diagnostikken og svarrapporteringen på en enklere måte ved delt kunnskap, og også harmonisere svarutveksling mellom sykehus)*	17
b. Nei. (Dette bør hver lab klare selv, og desuten vi har ulike behov/revirenter og laboratoriesystemer)	3
c. Vet ikke	1

* Kommenter: Ettersom svarrapporter skal bli mer tilgjengelige både for pasienter og kliniker utenfor eget opptaksområde er det fornuftig med mer samordnet svarrapportering. Dette gjelder for alle mikrobiologiske svar. Bør en slik gruppe også se på virologiske svar?



Kan din avdeling avdeling være interessert i å delta i en slik gruppe med (ressurs)personer dersom dette etterspørres?

	Antall
Ja	6
Nei	3
Vet ikke	8
Tomme/ikke svart	4



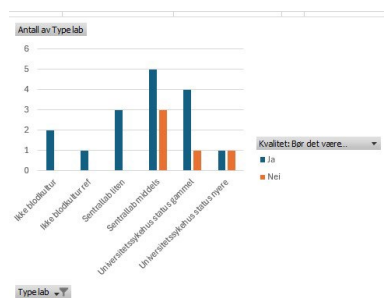
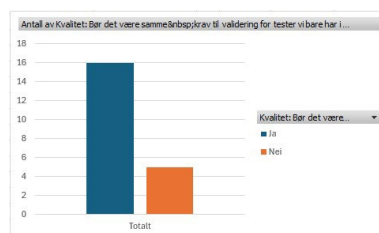
Del 2 - Innleggene/Bakgrunnsinformasjon

Har dere eller planlegger dere å etablere spesifikke ID-PCRer?

Type lab	NMEN ev kapsel	GC	LMON	FTUL	BORR	ANDRE?
Universitetssykehus status nyere	Nei	Nei	Nei	Nei	Nei	Nei
Universitetssykehus status nyere	Nei	Nei	Nei	Nei	Nei	Nei
Universitetssykehus status gammel	Ja, har etablert	Ja, har etablert	Nei	Nei	Nei	Ja, har etablert
Universitetssykehus status gammel	Ja, har etablert	Ja, har etablert	Ja, har etablert	Planlegger å etablere i løpet av 3 år	Nei	Ja, har etablert
Universitetssykehus status gammel	Ja, har etablert	Ja, har etablert	Ja, har etablert	Ja, har etablert	Ja, har etablert	Ja, har etablert
Universitetssykehus status gammel	Ja, har etablert	Ja, har etablert	Ja, har etablert	Ja, har etablert	Nei	Ja, har etablert
Universitetssykehus status gammel	Ja, har etablert	Ja, har etablert	Ja, har etablert	Nei	Nei	Ja, har etablert
Sentrallab middels	Ja, har etablert	Ja, har etablert	Ja, har etablert	Nei	Ja, har etablert	Ja, har etablert
Sentrallab middels	Planlegger å etablere i løpet av 3 år	Ja, har etablert	Nei	Nei	Ja, har etablert	Nei
Sentrallab middels	Nei	Nei	Nei	Planlegger å etablere i løpet av 3 år	Nei	Nei
Sentrallab middels	Nei	Ja, har etablert	Nei	Nei	Nei	Nei
Sentrallab middels	Nei	Nei	Nei	Nei	Nei	Nei
Sentrallab middels	Ja, har etablert	Ja, har etablert	Nei	Nei	Ja, har etablert	Ja, har etablert
Sentrallab middels	Nei	Ja, har etablert	Nei	Nei	Nei	Ja, har etablert
Sentrallab middels	Nei	Ja, har etablert	Nei	Nei	Nei	Nei
Sentrallab liten	Nei	Nei	Nei	Nei	Nei	Nei
Sentrallab liten	Nei	Nei	Nei	Nei	Nei	Nei
Sentrallab liten	Nei	Nei	Nei	Nei	Nei	Nei
Ikke blodkultur ref	Ja, har etablert	Nei	Nei	Ja, har etablert	Nei	Ja, har etablert
Ikke blodkultur	Nei	Nei	Nei	Nei	Nei	Ja, har etablert
Ikke blodkultur	Nei	Ja, har etablert	Nei	Nei	Nei	Nei

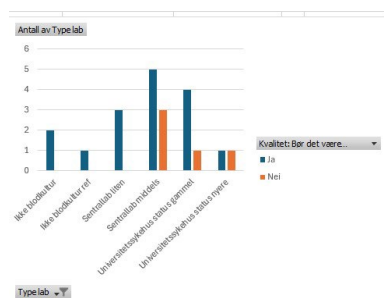
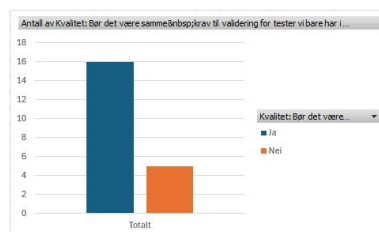
Type lab	ANDRE?	Andre spesifikke ID-PCRer, (i) bruk og (ii) planlegges- Andsp;
Universitetssykehus status nyere	Nei	
Universitetssykehus status nyere	Nei	
Universitetssykehus status gammel	Ja, har etablert	i: aspergillus, mucorales, candida, ii: S pyogenes, Nocardia, ++
Universitetssykehus status gammel	Ja, har etablert	i) T bruk: Pnemokokker, H. influenzae, GBS, S. aureus, B. pertussis, C. pneumoniae, MRSA, VRE, agens i Filmarray?? ii) Planlegges: GAS, Kingella
Universitetssykehus status gammel	Ja, har etablert	Flere syndrom-pakker for ID direkte fra prøvematerialet: empyem, tonsillitt, atrieitt (ii), spondylodiskitt (ii) ++
Universitetssykehus status gammel	Ja, har etablert	I bruk: Legionella pneumophila /Legionella spp (med smeltepunktanalyse), GBS, GAS, nuc/tuf for S. aureus, pneumolysin gen for S. pneumoniae, Mycobacterium tuberculosis complex, Mycobacterium genus (med smeltepunktanalyse), Mycobacterium abscessus, Kingella kingae
Universitetssykehus status gammel	Ja, har etablert	Vi har etablert spesifikke ID-PCR på: H. influenzae, Pnemokokker, S. aureus, E. coli, S. agalctiae, Listeria monocytogenes, H. genitalium m.m
Sentrallab middels	Ja, har etablert	Dette er mange!
Sentrallab middels	Nei	
Sentrallab middels	Nei	
Sentrallab middels	Nei	
Sentrallab middels	Nei	
Sentrallab middels	Ja, har etablert	Innføres i august 2024: Empyem PCR med pneumokokker, Fusobacterium nucleatum, Streptococcus intermedius og S. constellatus.
Sentrallab middels	Ja, har etablert	Vi har spesifikke ID-PCR for meningokokk (og andre agens) i syndrombasert testing på FilmArray fra spinalvæske og blodkultur. For gonokokker setter vi opp PCR på Cobas som konfirmering hvis Vitek ikke gir tilfredsstillende resultat (i tillegg til MaldiToF)
Sentrallab middels	Nei	
Sentrallab liten	Nei	
Sentrallab liten	Nei	
Sentrallab liten	Nei	
Ikke blodkultur ref	Ja, har etablert	i) Eoli , Mykobakterier, spinalvæskePCR som inneholder ID på s.pneumoniae, H.influenzae og N.meningitidis. diverse beredskapsagens, Corynebacterium
Ikke blodkultur	Ja, har etablert	i) H. pylori ii) T. rubrum iii) T. indotinea iv) N. gonorrhoeae v) T. pallidum
Ikke blodkultur	Nei	

Når Maldi er nede:



Kvalitet: Bør det være samme nspr krav til validering for tester vi bare har i beredskap?	Ja, begrunn gjerne kort	Nei, begrunn gjerne kort
Ja	Beredst ap sk ene b er v alider e, men trenger ikke v ere ak red ene	
Ja	Metodene ak red ert fra tidl.	
Ja	Alternative tester har samme krav til kvalitet	
Ja		
Ja	Et begrenset validering b er utf ert for dokument ere at f enotypiske tester som skal brukes som back-up fungerer bra.	
Ja		
Ja	Behov et i pas ientbehandling en er lik selv om Maldi-T of er nede.	
Ja	Det er ekstra viktig at man har kvalit ets kontroll p analyser som utf eres sj elden til bered skap. Man har da mindre mulighet til avdek ke feil "tilfeldig" og m kunne stole p analys eres ultat et n r testen l ert utf eres.	
Ja	Tester vi har i bered skap har vi valider t/verifiser t tidligere f er vi fikk MaldiTo f. M ner at bered skap tester b er valider t/verifiser t	
Ja		
Ja		
Ja	Ak red ert lab	
Ja	Viktig sikre r ktige svar til re u ent, ogs n r ut ned agn ost ik er nede. B er ha samme krav til kvalitet.	
Ja	Det som skal sv ares ut b er ha samme sikkerhet validering som ved funger ende MALDI-T OF	
Ja	Litt vanskelig tol ke hva dere er ute etter her. Vi har 2 Maldi-To f. De er back-up for hver andre. I tillegg finnes noen "old-school" tester som kvalit ets kontroll eres p vanlig m t.	
Ja	pga. IVDR	
Nei		Vi har to maldi-tof som er back-up for hver andre. Ved bortfall av begge har vi gamle metoder i reserve. Enkelte av disse er frem deles i bruk, og derfor kvalit ets kontroll ert. Men de som ikke er i bruk til daglig vil vi kunne ta i bruk uten validering, utover tidligere testing og aktiv erte pros ed rer.
Nei		Det er n pp et m ss og opp im ot ide samme krav til n y aktighet og kvalitet. Det er krev ende behol de manuelle andre test en ID-metoder n Maldi-To f ikke fungerer. Det er rs aken til at vi har to maskiner i bruk hos oss.
Nei		Res ed er p are gn ig et var et t i m ald et, men s l enge det er sj elden fore kom ende ten ker vi at i ss ene b er kunne v ere noe l empelig ere. Etter klinisk v ud ering m noen isol at er vid eres endes.
Nei		Mer et v is ge t urn kan vi k onfirm ere med Maldi-T L F s en ere.
Nei		For om at ende, ikke gjennomf er bart.

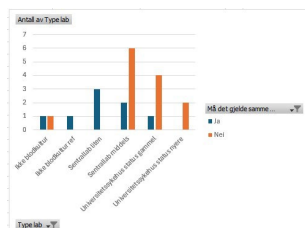
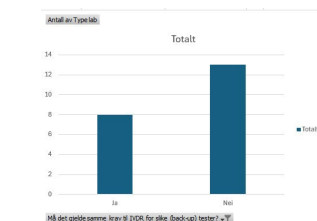
Når Maldi er nede:



Kvalitet: Bør det være samme nspr krav til validering for tester vi bare har i beredskap?	Ja, begrunn gjerne kort	Nei, begrunn gjerne kort
Ja	Beredst ap sk ene b er v alider e, men trenger ikke v ere ak red ene	
Ja	Metodene ak red ert fra tidl.	
Ja	Alternative tester har samme krav til kvalitet	
Ja		
Ja	Et begrenset validering b er utf ert for dokument ere at f enotypiske tester som skal brukes som back-up fungerer bra.	
Ja		
Ja	Behov et i pas ientbehandling en er lik selv om Maldi-T of er nede.	
Ja	Det er ekstra viktig at man har kvalit ets kontroll p analyser som utf eres sj elden til bered skap. Man har da mindre mulighet til avdek ke feil "tilfeldig" og m kunne stole p analys eres ultat et n r testen l ert utf eres.	
Ja	Tester vi har i bered skap har vi valider t/verifiser t tidligere f er vi fikk MaldiTo f. M ner at bered skap tester b er valider t/verifiser t	
Ja		
Ja		
Ja	Ak red ert lab	
Ja	Viktig sikre r ktige svar til re u ent, ogs n r ut ned agn ost ik er nede. B er ha samme krav til kvalitet.	
Ja	Det som skal sv ares ut b er ha samme sikkerhet validering som ved funger ende MALDI-T OF	
Ja	Litt vanskelig tol ke hva dere er ute etter her. Vi har 2 Maldi-To f. De er back-up for hver andre. I tillegg finnes noen "old-school" tester som kvalit ets kontroll eres p vanlig m t.	
Ja	pga. IVDR	
Nei		Vi har to maldi-tof som er back-up for hver andre. Ved bortfall av begge har vi gamle metoder i reserve. Enkelte av disse er frem deles i bruk, og derfor kvalit ets kontroll ert. Men de som ikke er i bruk til daglig vil vi kunne ta i bruk uten validering, utover tidligere testing og aktiv erte pros ed rer.
Nei		Det er n pp et m ss og opp im ot ide samme krav til n y aktighet og kvalitet. Det er krev ende behol de manuelle andre test en ID-metoder n Maldi-To f ikke fungerer. Det er rs aken til at vi har to maskiner i bruk hos oss.
Nei		Res ed er p are gn ig et var et t i m ald et, men s l enge det er sj elden fore kom ende ten ker vi at i ss ene b er kunne v ere noe l empelig ere. Etter klinisk v ud ering m noen isol at er vid eres endes.
Nei		Mer et v is ge t urn kan vi k onfirm ere med Maldi-T L F s en ere.
Nei		For om at ende, ikke gjennomf er bart.

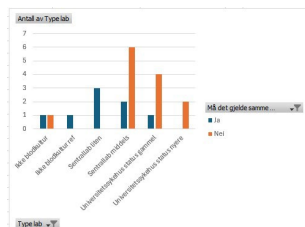
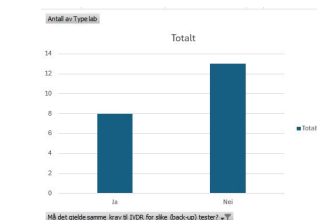
Del 2 - Innleggene/Bakgrunnsinformasjon

Må det gjelde samme krav til IVDR for slike (back-up) tester?



Må det gjelde samme krav til IVDR for slike (back-up) tester?	Ja, begrunn gjerne kort	Nei, begrunn gjerne kort
Nei		Se forrige svar
Nei		Ikke kapasitet til testing av slike back-up tester.
Nei		Brukes lite og om kortvarig.
Ja	Back-up analyser bør ha samme krav til kvalitet	
Nei		
Nei		Back-up tester kan brukes som foreløpige svar.
Nei		Samme svar som ved forrige spørsmål.
Ja		
Nei		Vi mener nei, men det er neppe lett å begrunne formelt.
Ja		
Nei		Selv om IVDR-godkjente tester ikke er tilgjengelig må vi kunne opprettholde drift med tilgjengelige metoder og kunnskap
Nei		For omfattende.
Nei		Ofte spesielle tester som ikke er kommersielt tilgjengelige.
Nei		IVDR reglene er veldig strenge. Det bør ikke være strengere enn regler vi har i dag fra norsk akkreditering. Skal vi følge IVDR har vi kanskje ikke noen backup på flere tester ettersom det blir så strengt og backupen kun skal brukes midlertidig. Men Vitek er vår hovedbackup og vil nok bli IVDR godkjent.
Nei		
Ja	-	
Ja	Akkreditert lab	
Ja	Viktig å sikre riktige svar til rekvirent, også når rutinediagnostikk er nede. Bør ha samme krav til kvalitet.	
Ja		
Ja	Det som skal svares ut bør ha samme sikkerhet/validering som ved fungerende MALDI-TOF.	
Ja		
Nei		
Ja	-	

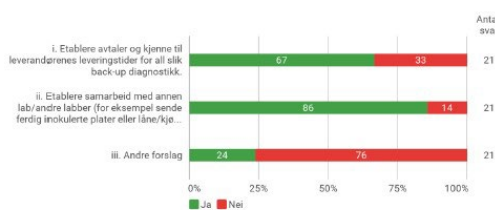
Må det gjelde samme krav til IVDR for slike (back-up) tester?



Må det gjelde samme krav til IVDR for slike (back-up) tester?	Ja, begrunn gjerne kort	Nei, begrunn gjerne kort
Ja	Back-up analyser bør ha samme krav til kvalitet	
Ja		
Ja		
Ja	-	
Ja	Akkreditert lab	
Ja	Viktig å sikre riktige svar til rekvirent, også når rutinediagnostikk er nede. Bør ha samme krav til kvalitet.	
Ja		
Ja	Det som skal svares ut bør ha samme sikkerhet/validering som ved fungerende MALDI-TOF.	
Ja	-	
Nei		Se forrige svar
Nei		Ikke kapasitet til testing av slike back-up tester.
Nei		Brukes lite og om kortvarig.
Nei		
Nei		Back-up tester kan brukes som foreløpige svar.
Nei		Samme svar som ved forrige spørsmål.
Nei		Vi mener nei, men det er neppe lett å begrunne formelt.
Nei		Selv om IVDR-godkjente tester ikke er tilgjengelig må vi kunne opprettholde drift med tilgjengelige metoder og kunnskap
Nei		For omfattende.
Nei		Ofte spesielle tester som ikke er kommersielt tilgjengelige.
Nei		IVDR reglene er veldig strenge. Det bør ikke være strengere enn regler vi har i dag fra norsk akkreditering. Skal vi følge IVDR har vi kanskje ikke noen backup på flere tester ettersom det blir så strengt og backupen kun skal brukes midlertidig. Men Vitek er vår hovedbackup og vil nok bli IVDR godkjent.
Nei		
Nei		
Nei		

Del 2 - Innleggene/Bakgrunnsinformasjon

Lagerføring av tester brukt i "konvensjonell" (ikke MS) ID diagnostikk. Hvordan sikre tilstrekkelig rask back-up lokalt:



Andre forslag angående lagerføring:

Vi har medieproduksjon ved vårt laboratorium og har arkiverte prosedyrer for tillegging av gamle tester.

Bevaring av lokal produksjon gir god kompetanse og bedre beredskap.

Vi har lager - men må nok på skit tenke annetledes og kommer trolig til å satse mere på back-up Maldi-TOF

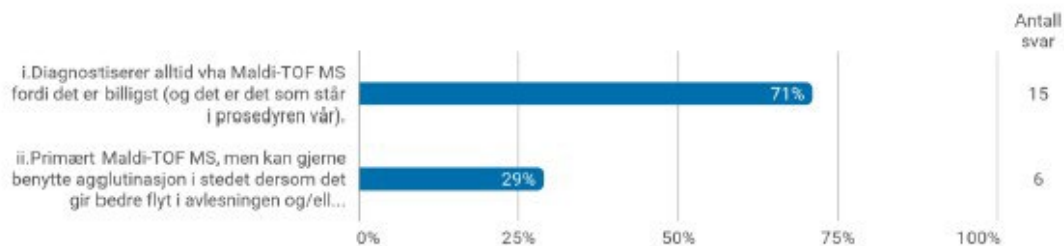
Samtet lageranlegg for helseforetak? ev for regioner. Lite hensiktsmessig at alle skal sitte på alt av backupdiagnostikk

Mange har annen id slik som Vitek til noen diagnostikk (og resistens) i bakhånd. FilmArray BCID2 (blodkulturdiagnostikk) kan brukes om man har noen kassetter liggende. I tillegg finnes det andre tester som f.eks staphylase, gruppetying av streptokokker, pneumokokk agglutinasjon mm som man kan kjøpe inn raskt men gjerne ha i bakhånd på laboratoriet. Hos oss har vi alt dette tilgjengelig ettersom vi bruker det jevnlig i rutinen som tilleggster

Maldi-Tof er et så viktig ID-instrument innenfor bakteriologisk diagnostikk, slik at alle laboratorier har egentlig bruk for en back-up maskin.

Generell evne til fleksibelt å velge «god nok» ID metode.

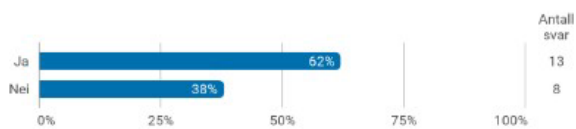
Du skal vurdere er enkel sårprøve fra allmennpraksis og finner blandet flora med tentativt gule stafylokokker. Hva passer best i din lab?



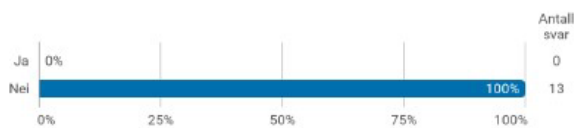
Del 2 - Innleggene/Bakgrunnsinformasjon

Biosikkerhet:

Har dere P3 lab?



Har dere Maldi-TOF MS-instrument i P3 lab?



Maldi fra positive blodkulturflasje:

	Ja	Nei
Utfører deres avdeling Maldi-TOF MS ID direkte fra positiv blodkulturflaske?*	17	4
Benyttes MTB sepsiotyper IVD kit?	9	NA
Benyttes annen metode	8	NA

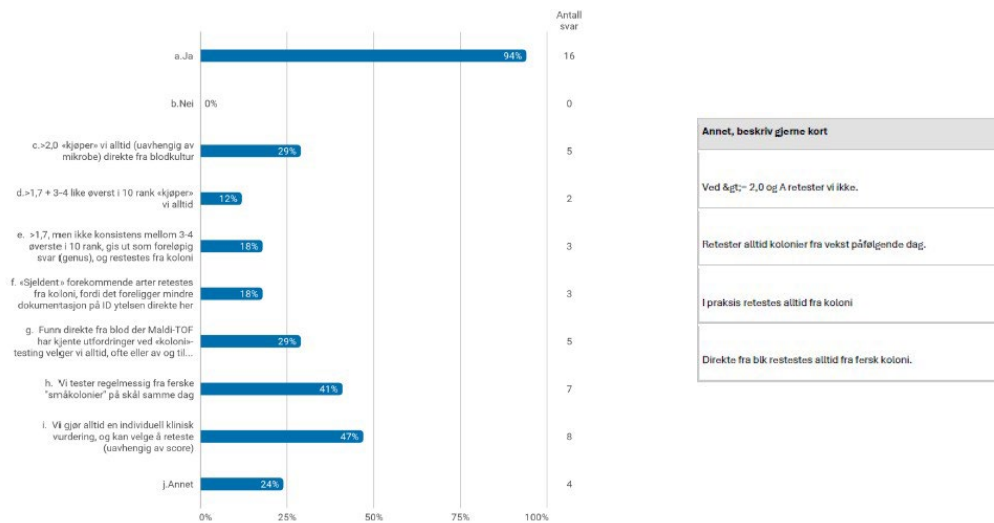
* Kunne hatt et ikke aktuelt alternativ her (Furst og FHI).

Type lab	Hverdager	Helg
Sentrallab middels	7	7
Sentrallab middels	7	7
Sentrallab middels	7,5	7,5
Sentrallab liten	7,5	7,5
Sentrallab liten	7,5	7,5
Universitetssykehus status nyere	8	0
Sentrallab middels	8	8
Universitetssykehus status gammel	9	7
Sentrallab middels	9	7,5
Sentrallab middels	10	6
Universitetssykehus status gammel	11	7,5
Universitetssykehus status gammel	12	8
Universitetssykehus status nyere	13	6
Sentrallab middels	13,5	7,5
Sentrallab middels	13,5	7,5
Universitetssykehus status gammel	13,5	13,5
Universitetssykehus status gammel	16	7

Del 2 - Innleggene/Bakgrunnsinformasjon

Har dere retningslinjer/prosedyrer for hvilke funn som repeteres fra koloni?

(x av de påstandene som dekkende eller ganske dekkende for deres praksis).



Medisinsk mikrobiologisk afdeling	Type lab	Unnødv. deres avdeling Maldi-TOF MS ID direkte fra positive blodkulturas ikke?		Hvordan		Hvilken metode brukes:	Hvilken annen metode bruker dere og har dere validert denne?	Har dere retningslinjer/prosedyrer for hvilke funn som repeteres fra koloni? (x av de påstandene som dekkende eller ganske dekkende for deres praksis).	Annet, beskriv gjerne kort
		Hverdag	Helg	Hverdag	Helg				
Stavanger Universitetssykehus	Universitetssykehus status nyere	Ja	6	8	a. MTB seppitgen IVD kit			i. Annet	Direkte fra blk restestes alltid fra fersk koloni.
Ahus, Lørenskog	Universitetssykehus status nyere	Ja	13	6	b. Annen metode	Saponin		a. Ja f. e. f. g. t. 2.0 «kjøper» vi alltid (uavhengig av mikrobe) direkte fra blodkultur f. i. Vi tester regelmessig fra ferske «småkolonier» på skål samme dag f. i. Vi gjør alltid en individuell klinisk vurdering, og kan velge å reteste (uavhengig av score)	
Oslo Universitetssykehus, Pilestredet	Universitetssykehus status gammel	Ja	11	7,5	a. MTB seppitgen IVD kit			a. Ja f. h. Vi tester regelmessig fra ferske «småkolonier» på skål samme dag	
Oslo Universitetssykehus, Ullevål	Universitetssykehus status gammel	Ja	12	8	a. MTB seppitgen IVD kit			a. Ja f. h. Vi tester regelmessig fra ferske «småkolonier» på skål samme dag	
Haukeland Universitetssykehus, Bergen	Universitetssykehus status gammel	Ja	16	7	a. MTB seppitgen IVD kit			a. Ja f. i. Vi gjør alltid en individuell klinisk vurdering, og kan velge å reteste (uavhengig av score) f. i. Annet	i. praksis retestes alltid fra koloni
St. Olavs Hospital, Trondheim	Universitetssykehus status gammel	Ja	13,5	13,5	b. Annen metode	Vår in-house metode, validert i 2018 (se: Jakobsen A and Bergh K, 2018)		a. Ja f. e. f. g. t. 2.0 «kjøper» vi alltid (uavhengig av mikrobe) direkte fra blodkultur f. e. f. g. t. 1,7 + 3-4 like øverst i 10 rank «kjøper» vi alltid f. e. f. g. t. 1,7, men ikke konsistens mellom 3-4 øverste i 10 rank, gir ut som forelegg svar (genus), og testenes fra koloni f. i. «Sjeldent» forekommende arter retestes fra koloni, fordi det foreligger mindre dokumentasjon på ID ytelsen direkte her f. g. Funn direkte fra blod der Maldi-TOF har kjente utfordringer ved kolonitesting velger vi alltid, ofte eller av og til å reteste (uavhengig av score) f. i. Vi tester regelmessig fra ferske «småkolonier» på skål samme dag f. i. Vi gjør alltid en individuell klinisk vurdering, og kan velge å reteste (uavhengig av score)	
Universitetssykehuset Nord-Norge, Tromsø	Universitetssykehus status gammel	Ja	9	7	a. MTB seppitgen IVD kit			a. Ja f. e. f. g. t. 2.0 «kjøper» vi alltid (uavhengig av mikrobe) direkte fra blodkultur f. e. f. g. t. 1,7 + 3-4 like øverst i 10 rank «kjøper» vi alltid f. e. f. g. t. 1,7, men ikke konsistens mellom 3-4 øverste i 10 rank, gir ut som forelegg svar (genus), og testenes fra koloni f. i. «Sjeldent» forekommende arter retestes fra koloni, fordi det foreligger mindre dokumentasjon på ID ytelsen direkte her f. g. Funn direkte fra blod der Maldi-TOF har kjente utfordringer ved kolonitesting velger vi alltid, ofte eller av og til å reteste (uavhengig av score) f. i. Vi tester regelmessig fra ferske «småkolonier» på skål samme dag f. i. Vi gjør alltid en individuell klinisk vurdering, og kan velge å reteste (uavhengig av score)	
Sykehuset Møre og Romsdal, Molde	Sentrallab middele	Ja	8	8	b. Annen metode	Ribobas-basert på F. Collier et al.		a. Ja	
Sørlandet Sykehus, Kristiansand	Sentrallab middele	Ja	7	7	b. Annen metode	Annen metode- Saponin basert metode (am St. Olav) Validert. Ja		a. Ja f. e. f. g. t. 2.0 «kjøper» vi alltid (uavhengig av mikrobe) direkte fra blodkultur f. i. «Sjeldent» forekommende arter retestes fra koloni, fordi det foreligger mindre dokumentasjon på ID ytelsen direkte her f. g. Funn direkte fra blod der Maldi-TOF har kjente utfordringer ved kolonitesting velger vi alltid, ofte eller av og til å reteste (uavhengig av score) f. i. Vi tester regelmessig fra ferske «småkolonier» på skål samme dag f. i. Vi gjør alltid en individuell klinisk vurdering, og kan velge å reteste (uavhengig av score)	
Sykehuset Innlandet, Lillehammer	Sentrallab middele	Ja	7	7	b. Annen metode	Jeg forestår ikke spm. Egen inhouse metode Validert og publisert.		a. Ja f. e. f. g. t. 2.0 «kjøper» vi alltid (uavhengig av mikrobe) direkte fra blodkultur f. d. f. g. t. 1,7 + 3-4 like øverst i 10 rank «kjøper» vi alltid f. i. «Sjeldent» forekommende arter retestes fra koloni, fordi det foreligger mindre dokumentasjon på ID ytelsen direkte her f. g. Funn direkte fra blod der Maldi-TOF har kjente utfordringer ved kolonitesting velger vi alltid, ofte eller av og til å reteste (uavhengig av score) f. h. Vi tester regelmessig fra ferske «småkolonier» på skål samme dag	
Vestre Viken, Drammen	Sentrallab middele	Ja	13,5	7,5	b. Annen metode	Egen inhouse metode Validert og publisert.		a. Ja f. i. Vi gjør alltid en individuell klinisk vurdering, og kan velge å reteste (uavhengig av score)	
Sykehuset Østfold, Kalnes	Sentrallab middele	Ja	13,5	7,5	a. MTB seppitgen IVD kit			a. Ja f. e. f. g. t. 1,7, men ikke konsistens mellom 3-4 øverste i 10 rank, gir ut som forelegg svar (genus), og testenes fra koloni f. i. Vi gjør alltid en individuell klinisk vurdering, og kan velge å reteste (uavhengig av score)	
Sykehuset Vestfold, Tønsberg	Sentrallab middele	Ja	10	6	b. Annen metode	Validert egen metode med saponin.		a. Ja	
Nordlandssykehuset, Bodø	Sentrallab middele	Ja	7,5	7,5	a. MTB seppitgen IVD kit			a. Ja f. g. Funn direkte fra blod der Maldi-TOF har kjente utfordringer ved kolonitesting velger vi alltid, ofte eller av og til å reteste (uavhengig av score) f. h. Vi tester regelmessig fra ferske «småkolonier» på skål samme dag f. i. Vi gjør alltid en individuell klinisk vurdering, og kan velge å reteste (uavhengig av score)	
Vestre Viken, Bærum	Sentrallab middele	Ja	9	7,5	b. Annen metode	Hipermalagret metode med trykkløst. Metoden er validert.		a. Ja f. i. Annet	Ved > 2,0 og A retester vi ikke.
Helset Færd, Færd	Sentrallab liten	Ja	7,5	7,5	a. MTB seppitgen IVD kit			a. Ja	
Sykehuset Levanger	Sentrallab liten	Nei	Ukjent	Ukjent					
Helset Fonna, Haugesund	Sentrallab liten	Ja	7,5	7,5	a. MTB seppitgen IVD kit			a. Ja f. i. Annet	Pårester alltid kolonier fra vekst påfølgende dag.
FH-nett-lab, Oslo	Ikke blodkultur ref	Nei	Ukjent						
Furst, Oslo	Ikke blodkultur	Nei	Ukjent	Ukjent					
Uniklab, Skien	Ikke blodkultur	Nei	Ukjent	Ukjent					

Del 2 - Innleggene/Bakgrunnsinformasjon

Hvordan kommuniseres nytt antatt klinisk relevant ID funn direkte fra flasken til rekvirent?

a. Ringes som hovedregel ut av lege

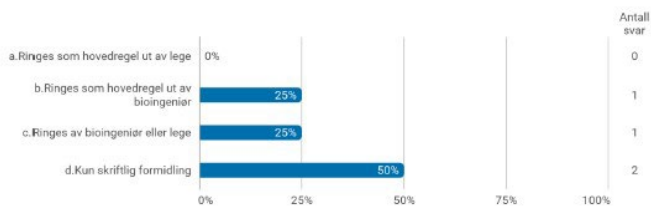
b. Ringes som hovedregel ut av bioingeniør

c. Ringes av bioingeniør eller lege

d. Kun skriftlig formidling

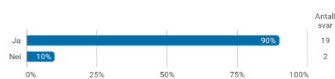
Feil i spørreskjemaet.

Hvordan kommuniseres nytt antatt klinisk relevant ID funn direkte fra flasken til rekvirent?

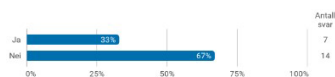


Muggsopp:

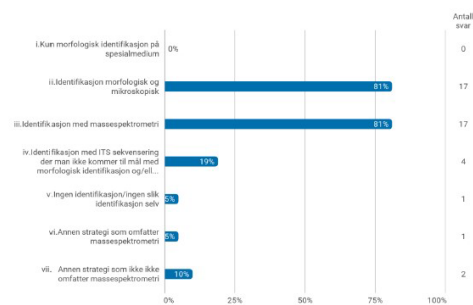
Utfører avdelingen rutinemessig dyrkning av muggsopp?



Utfører avdelingen regelmessig direkte mikroskopi på prøver som skal til muggsoppdyrkning?



Hvordan gjøres identifikasjon i deres lab ved funn av muggsopp (enten som tilfeldig på vanlige medier eller ved spesiell muggsoppdyrkning)?



Del 2 - Innleggene/Bakgrunnsinformasjon

Dermatofytter

Braker din lab Maldi-TOF til identifikaasjon av dermatofytter?



Bruger die anvendelse dermatofygt PCR til identifikation? 1 1 Angi i tilfælde leverandør under: 2 Angi i tilfælde kort arter/genere som kan identificeres/skilles:	Bruger die anvendelse dermatofygt PCR til identifikation? 1 1 Angi i tilfælde leverandør under: 2 Angi i tilfælde kort arter/genere som kan identificeres/skilles:	Bruger die anvendelse dermatofygt PCR til identifikation? 1 1 Angi i tilfælde leverandør under: 2 Angi i tilfælde kort arter/genere som kan identificeres/skilles:
engene Carabida albicollis (C2) Trichophyton montagnaphyces complexus (DNC) Microsporum spp. 2 (Msp2) Epidermophyton floccosum (E1) Trichophyton tonsurans (T1) Trichophyton rubrum complexus (DNC)	For i dag ikke dermatofygt PCR Nej Nej Nej Nej Nej	In house PCR PCR 1: PanDermt (giver alle dermatofytter) + Fitease P (interkontroll) PCR 1: ITS1 (T. mentis, T. schooni, T. versu, T. tons., T. equi, og T. violae) PCR 2: ITS2 (M. canis, M. audou, M. ferru, T. rub, T. violae, T. soud) PCR 4: Epidermophyton floccosum
Nej a. Inhouse PCR b. Vi gl at som svar: panDermt positiv men stilet kan ikke bestemme , og det er særligt gode ikke klart de væsentlig forekommende, eller Trichophyton stilet i men ikke T. rubrum eller T. tonsurans eller Falske men eller T. tonsurans, eller T. rubrum eller T. tonsurans, T. rubrum er væsentlig og forekommer globalt, T. tonsurans forekommer væsentlig i Afrika og Sydamerika (stort M. canis capitis, eller M. canis eller M. bergii, M. canis er væsentlig forekommer), M. audou eller M. bergii, M. audou er væsentlig forekommer), eller E. floccosum	Ja, vi har en egen dermatofygt PCR a. Det er Neoplasia Dermatofygt PCR b. Den identificerer: C. albicollis, Microsporum, spp. 2, Epidermophyton floccosum, Trichophyton montagnaphyces complexus, Trichophyton tonsurans, og T. rubrum In house Genetisk dermatofygt DNA, inkluderet Trichophyton, Epidermophyton og Microsporum Trichophyton rubrum complexus DNA, inkluderende T. rubrum, T. violaceum og T. tonsurans Trichophyton montagnaphyces complexus DNA, inkluderende T. montagnaphyces, T. interdigitale og T. tonsurans med flere nært beslægtede Microsporum spp., inkluderet M. canis	Dermede Omnia 2.0 Complete Multiplex real-time PCR
a. DermatoService Testlabene i PCR 18 b. Håder og skaller T. rubrum, T. tonsurans, T. interdigitale, T. montagnaphyces, T. violaceum T. tonsurans, T. montagnaphyces ITS type Kv og T. schooni, ITS2, spulicaseum DNA c. In house d. T. floccosum, Trichophyton species, Microsporum species Under etablering SSI Dermatofygt realtime PCR T. rubrum Pan dermatofygt	In house real time PCR og nukleinsyretestingen skilles fra regler, hverdags og hel Identificere på arts- eller slæktniveau: Trichophyton rubrum complexus, T. montagnaphyces complexus, Trichophyton spp., Microsporum spp. og Epidermophyton spp.	

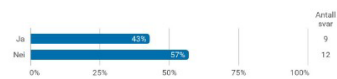
Del 2 - Innleggene/Bakgrunnsinformasjon

Mykobakterier:

Har din avdeling tilgang (i egen lab) til direktepåvisning av M.tuberculosis complex fra ekspektorater?



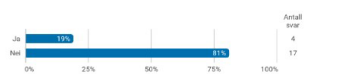
Har deres lab dyrkningsbasert mykobakterie-diagnostikk?



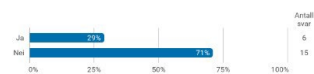
Benyttes PCR for å bekrefte eller utelukke M.tuberculosis fra oppvekstkultur?



Benyttes spesifikke PCR'er og/eller sekvensering for å bekrefte ulike NTM?



Brukes MALDI-TOF MS til identifikasjon av ulike mykobakterier i din avdeling?



Andre kommentarer til spørreskjemaet

Med bakgrunn i det som er tatt opp i dette spørreskjemaet.

Har du/deres avdeling innspill til hva det er særlig viktig å få (i) diskutert i møtet og (ii) avklart i denne strategirapporten?

Alternative metoder som anbefales brukt når Maldit ikke fungerer. Minimum av ID som må gjøres i slikt tilfelle.

Det kan gjerne anbefales i rapporten at man har 2 MalditOf i et laboratorium mtp sårbarhetsrisiko. Da kan man vise til det mtp anskaffelse.

Ha gjerne med i rapporten hvilke agens Maldit ikke er god nok på der alternative metoder må brukes.

Ta gjerne med når fullstendig ekstraksjon bør vurderes.

Hva med sporer (biosafety) og Anthrax? Noe å bekymre seg for?

Andre bruksområder:

Resistensbestemmelse med Maldit? Påvisning av spesifikke biomarkører assosiert med antibiotika resistens? Deteksjon av betalaktamase aktivitet?

Påvisning av parasitter med Maldit?

Også andre identifikasjonssystemer slik som Vitek bør kanskje tas med..

VEDLEGG: Presentasjon om bakterie- og (mugg)sopp-taksonomi og -nomenklatur på Nettundervisningen 17.oktober 2024.

Viktige endringer innen taksonomi og nomenklatur hos bakterier og sopp

André Ingebretsen

Avd. for mikrobiologi og Avd. for
smittevern

Oslo universitetssykehus

Kilde: micronaut.ch



«The time will come I believe, though I shall not live to see it, when we shall have very fairly true genealogical trees of each great kingdom of nature»

Brev fra Charles Darwin til Thomas Huxley,
26. september 1857

RESEARCH ARTICLE | MICROBIOLOGY

Global diversity of enterococci and description of 18 previously unknown species

Julia A. Schwartzman^{1,2,3}, Francois Lebreton^{4,5,6}, Rauf Salamzade^{7,8}, Terrance Shear⁹, Melissa J. Martin^{10,11}, Katharina Schaefer^{12,13}, Aysun Unhan¹⁴, Thomas Abber¹⁵, Jana L. B. C. Camargo¹⁶, Bruno P. Sgardioli¹⁷, Janina Prichard^{18,19}, Ana Paula Guedes Prazon²⁰, Gonzalo Grilbert²¹, Dana Van Tjine²², Greg Tremblay²³, Charles J. Inniss²⁴, Jaap A. Wagenaar²⁵, Ryan M. Whipple²⁶, Abigail L. Hanson²⁷, Ashlee M. Earl^{28,29}, and Michael S. Gilmore³⁰

Edited by Roy Curtiss III, University of Florida, Gainesville, FL, received July 10, 2023; accepted December 6, 2023

Publications | Information for authors | Microbiology Society

INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC AND EVOLUTIONARY MICROBIOLOGY

Volume 73, Issue 11

Research Article | Open Access

***Mycoplasma phocimorsus* sp. nov., isolated from Scandinavian patients with seal finger or septic arthritis after contact with seals**

Axel Skjerve-Holm¹, Thomas Roland Pedersen², Maria Fratund³, Marc Stegger^{1,2}, Klaus Giering⁴, Dina L. Kucharski⁵, Daniel H. Brown⁶ and Jørgen Skov Jensen¹

Published: 15 November 2023 | <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.006163>

RESEARCH

Novel Organism Verification and Analysis (NOVA) study: identification of 35 clinical isolates representing potentially novel bacterial taxa using a pipeline based on whole genome sequencing

Veronica Murray^{1,2}, Helena M. B. Smith^{1,3,4,5}, Kai-Manuel Adam⁶, Saja Verrusen⁷, Vladimira Hrdlic⁸, Annette Bloor⁹, Tim Siefert^{10,11}, Ulrich Hoyerberg¹², Thomas Schind¹³, Markus Korte¹⁴, Lukas Graf¹⁵, Dylan M. Winterlood¹⁶, Pascal Schaefer¹⁷ and Daniel Goldenberger¹⁸

Article

Discovery of the *Pendulisporaceae*: An extremotolerant myxobacterial family with distinct sporulation behavior and prolific specialized metabolism

Myxobacteria with atypical sporulation ***Pendulisporaceae* fam. nov.**

Ronald Garcia, Alexander Popoff, Charal D. Bader, ..., Thomas Pletscher, Thorsten Bach, Rolf Müller

doi.org/10.1016/j.cmi.2023.100000

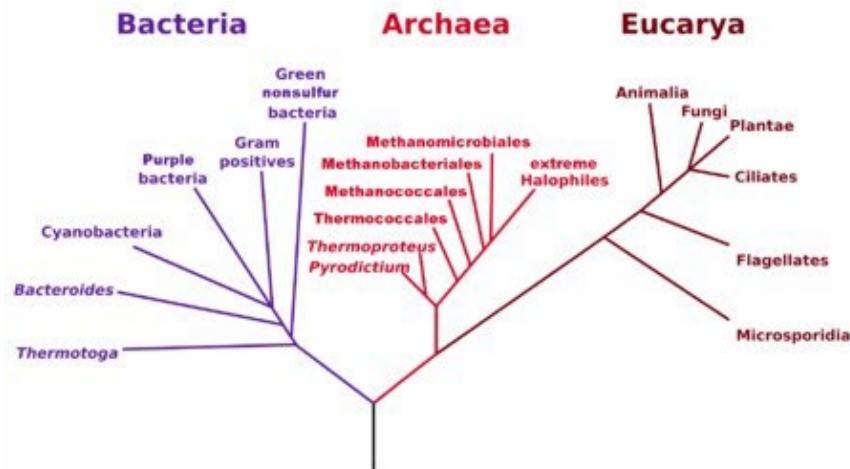
Highlights

- Pendulisporaceae* present unprecedented myxobacterial sporulation behavior
- The biosynthetic potential of the new family is distinct from that of other myxobacteria
- Pendulisporaceae* exemplify gene acquisition from other kingdoms of life
- Myxogastreales* showcase divergent gene-cluster evolution toward distinct functions

Hvorfor sette organismer i bås?

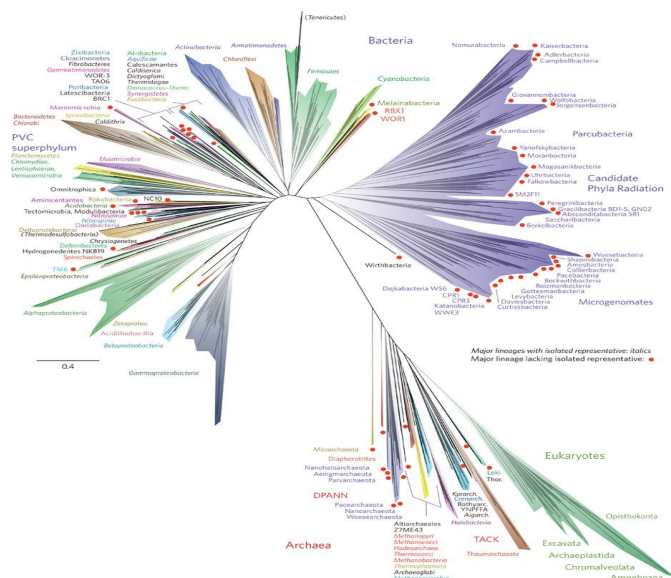
- En felles systematikk gjør det mulig å kommunisere presist om:
 - Nye arter som oppdages for vitenskapen
 - Hvilke arter som er utrydningstruet
 - Hvilke arter som er funnet på et geografisk område
 - Hvilke arter som er i nær slekt med hverandre
 - Hvilke arter som kan påvirke våre samfunn...og vårt samfunn deres

Phylogenetic Tree of Life

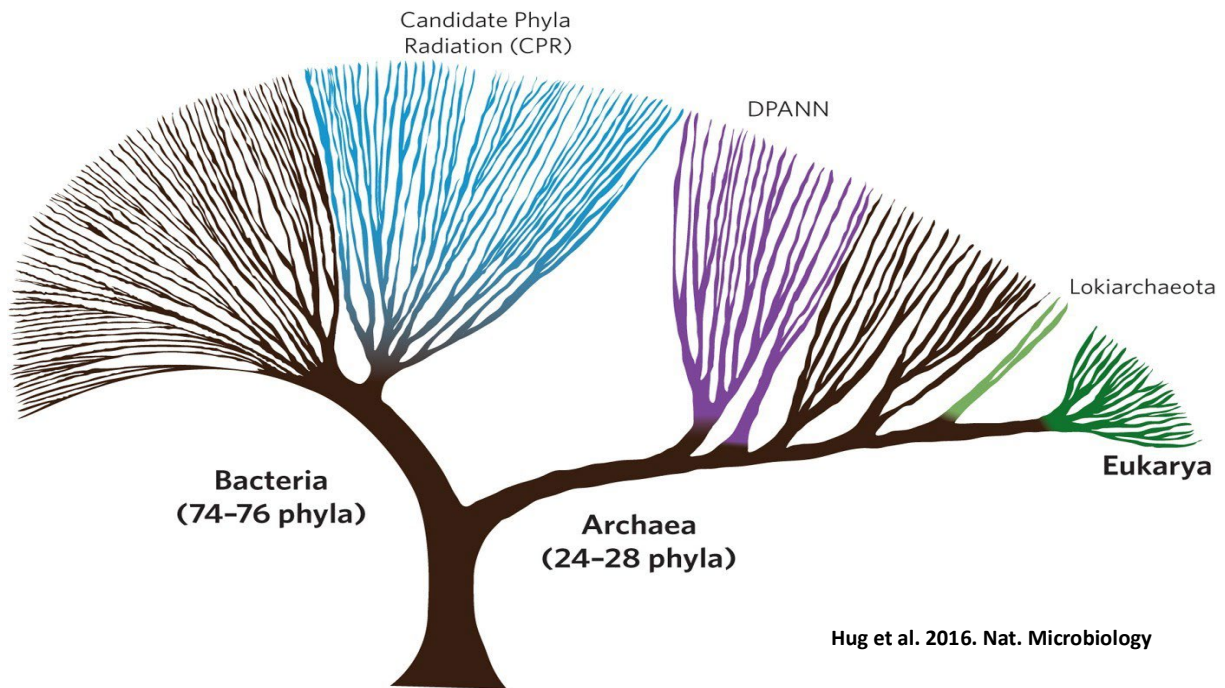


Carl Richard Woese, 1928-2012

Mikrobiell diversitet



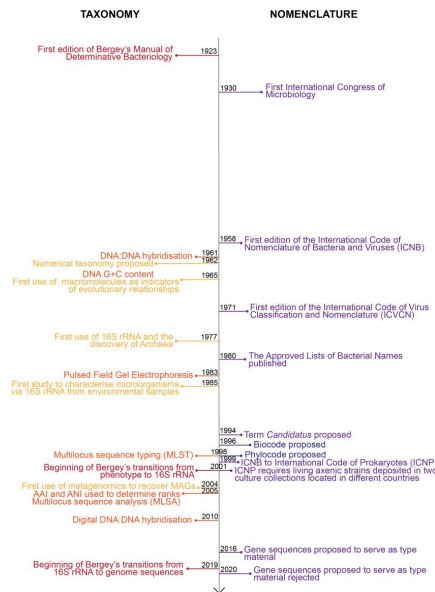
Hug et al. 2016. Nat. Microbiology



Begreper og definisjoner

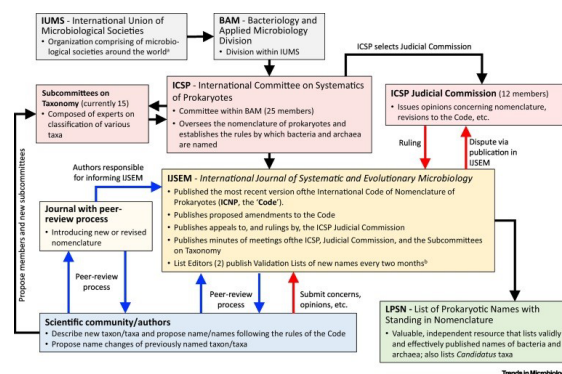
- Taksonomi – Vitenskap som omhandler biologisk klassifisering og slektskap mellom grupper av organismer. Består av :
 - Klassifisering: Arrangerer organismer i grupper kalt taksa basert på likheter
 - Nomenklatur: Regelverk for hvordan man navngir levende organismer. Følger det binominale systemet til Carl von Linné
 - Identifikasjon: En prosess som bestemmer om et isolat tilhører et bestemt takson
- Biovars – Biologiske varianter
 - Serovars
 - Genomovars

Viktige hendelser i bakteriell taksonomi og nomenklatur siste 100 år



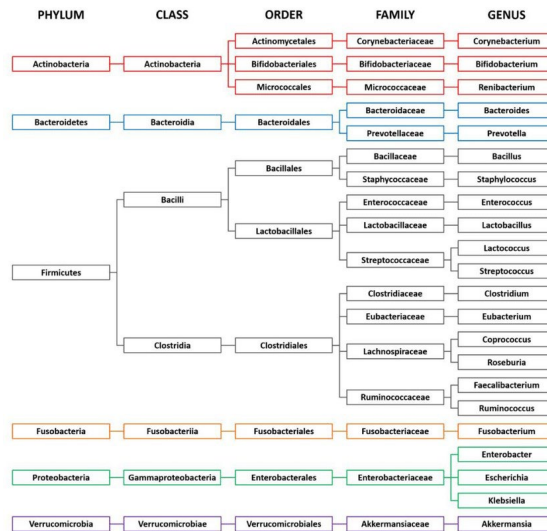
Hughenholz et al. 2021

Hvordan styres navnsetting av ny mikrobe?



Sanford et al. 2021

Hiarkisk klassifisering av organismer



Ike et al. 2020

Hva er en art?

Artsbegrepet i bakterier

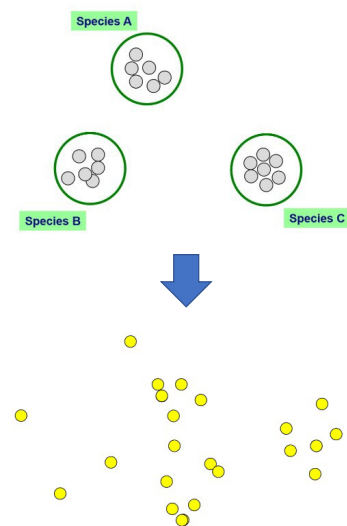
“A monophyletic and genomically coherent cluster of individual organisms that show a high degree of overall similarity in many independent characteristics, and is diagnosable by a discriminative phenotypic property.”

«Phylo-phenetic species concept» (Rosselló-Mora & Amann, 2001)

Artsbegrepet i bakterier

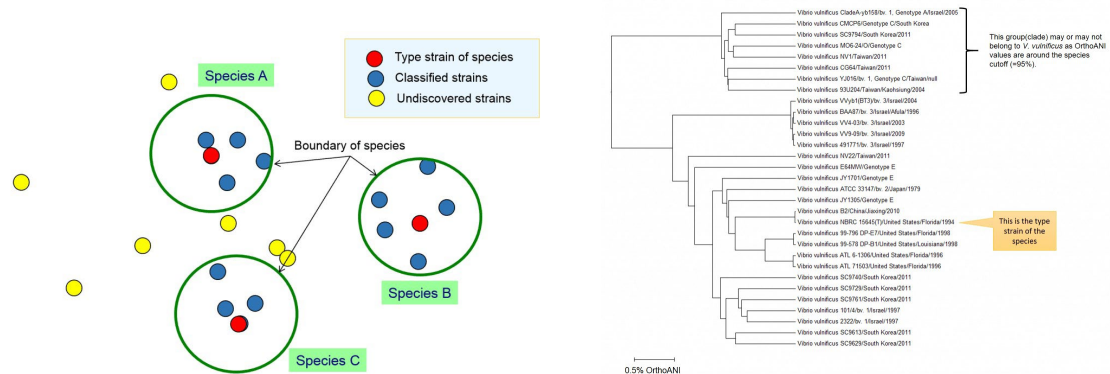
«The practical bacteria species concept»

- Referanse stammer (Type stammer)
- Terskelverdier for genetisk sammenligning



Chun, 2017

Artsbegrepet i bakterier



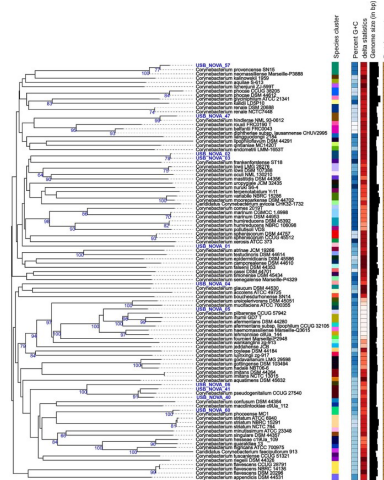
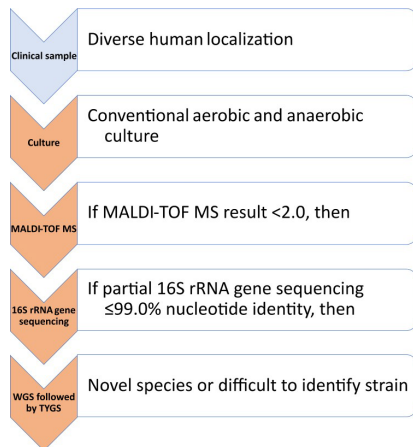
Chun, 2017

Artsbegrepet i bakterier

- Det finnes mange artskonsepter for bakterier:
 - Det fylofenetiske artskonsept
 - Det praktiske artskonseptet for bakterier
 - Stabil økotype model (SEM)
 - Det biologiske artskonseptet
 - Blandingskonseptet

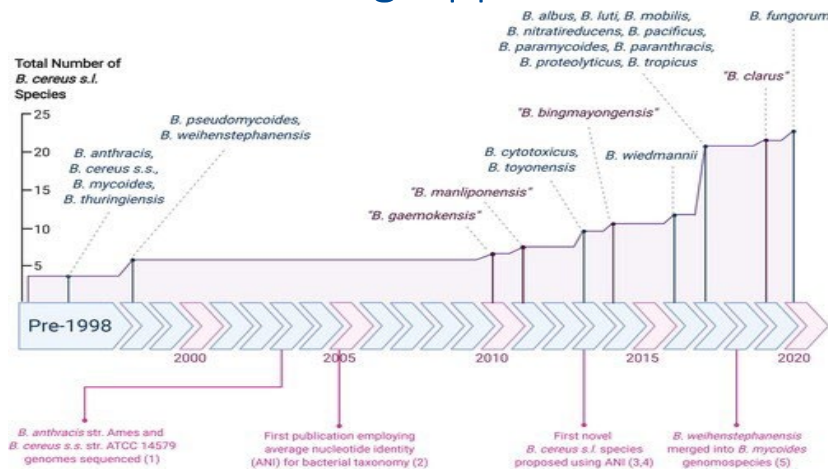
Lois-Marie Bobay. *The Prokaryotic Species Concept and Challenges* i "The Pangenome: Diversity, Dynamics and Evolution of Genomes". 2020

Praktisk fremgangsmåte for å finne nye arter



Muigg et al. BMC Microbiol. 2024

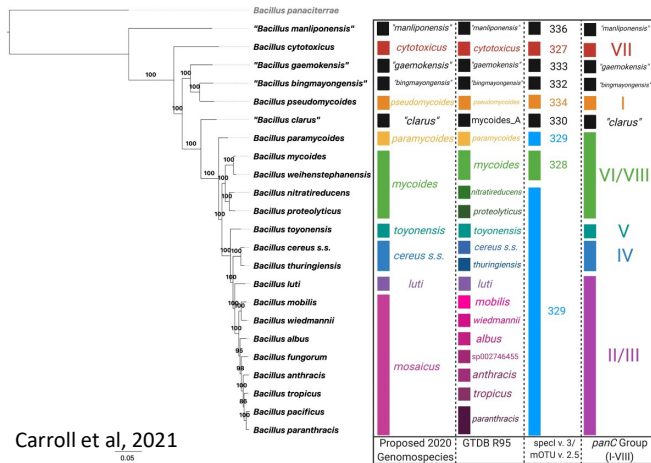
Bacillus cereus gruppen



Carroll et al, 2021

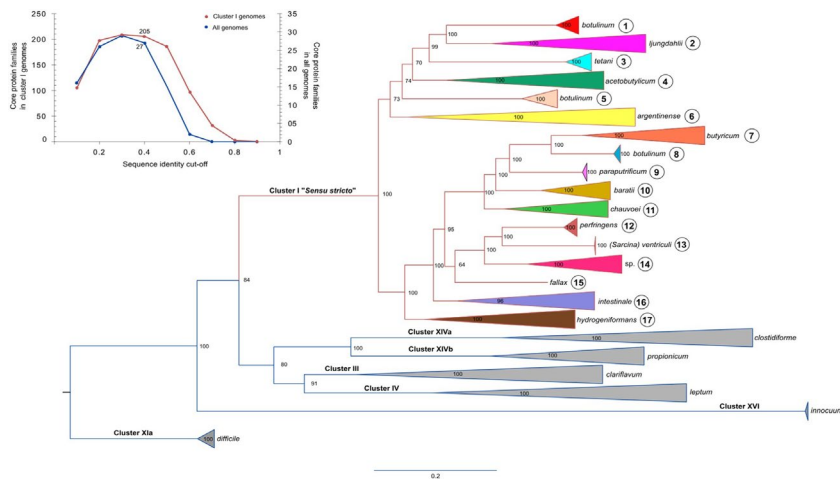
Bacillus cereus gruppen

- 2007: 7 arter (basert på fenotyper/økotyper)
- Post 2010 (Antall genomer øker): ANI, genomspecies
- 2015-2024:
 - >23 nye arter i Bc- gruppen og 57 genomspecies – feilidentifikasjon-taksonomien sliter
 - Store diskusjoner om DNA basert fylogeni og fenotypi –
 - Taksonomi/diagnostikk kræsj
 - Hvordan forholder vi oss til nye Bc-arter som foråraker anthrax?
 - Regulering av *B.thuringiensis* baserte insektisider



Inspirasjon: O.A.Økstad, UiO

Clostridium sp.



Oppsummering

- Taksonomi post-WGS : Mange nye arter oppdaget, utfordrer artsbegrepene
- Flere artsbegrep. Ikke alle passer alle organismer
- «Det praktiske artskonseptet for bakterier» lettest å forholde seg til
- Taksonomi og diagnostikk hører ikke alltid sammen
- Forandringer i taksonomi for bakterier går raskere enn diagnostiske databaser klarer og oppdateres

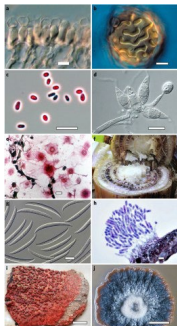
Endringer i sopp-taksonomi

Hva, hvorfor og uavklarte problemer

Nettundervisning mikrobiologi

17.10.2024

Kjersti Wik Larssen



[Fungal taxonomy and sequence-based nomenclature - PMC \(nih.gov\)](#)

1

Innhold

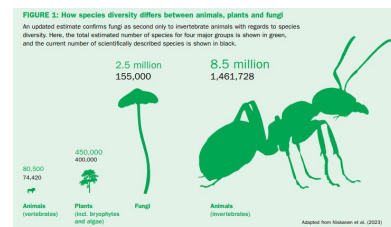
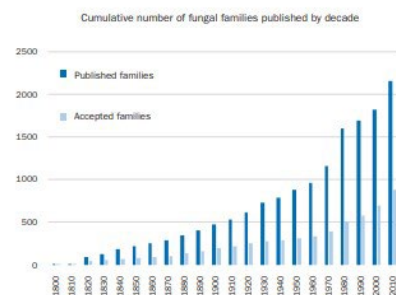
- Kongerike *Fungi*
- Sopptaksonomi og evolusjon av sopp
- Navnsetting på sopp
 - Historisk versus molekylær era
- Amsterdam deklarasjonen/ One fungus One name
 - Mange interesser
- Eksempler fra medisinsk viktige sopp
 - «*Candida*», *Cryptococcus*, *Aspergillus*, *Fusarium*

2

Ann. Rev. Microbiol. 2020. 74:291–313

Kongerike *Fungi*

- Eukaryote organismer
 - Nærmere dyreriket enn planteriket
- Estimert 2-3 millioner arter
 - Ca 155 000 er formelt beskrevet
 - < 10%
 - Ca 2000 nye spp beskrives per år nå
 - Menneskelig aktivitet gir nye opportuniteter
- Medisinsk viktige 500
 - 100-200 gir regelmessig infeksjon



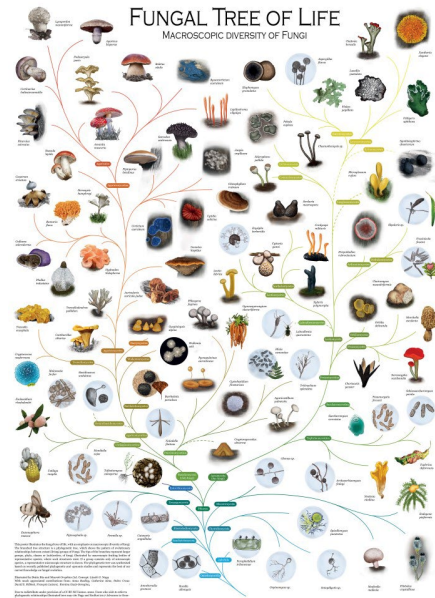
[State of the World's Plants and Fungi 2023 \(kew.org\)](https://www.kew.org/state-of-the-worlds-plants-and-fungi-2023)

3

Fungal Tree of Life (FTOL)

- Mat (>350 spp)
- Industriell bruk
 - Legemidler:
 - Alkohol og næringsmiddelproduksjon
 - Enzymer og metabolitter
- Forskning
 - Modell organismer
- Normalflora
- Viktig del av mange økosystem
- Patogen: mennesker, dyr, planter

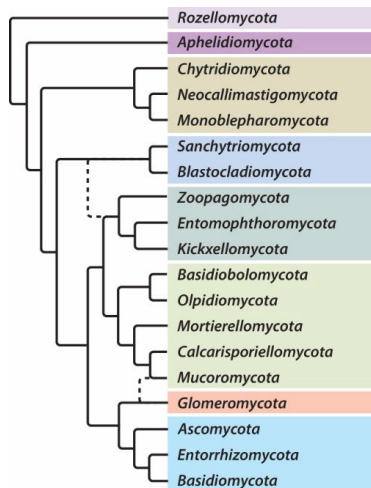
[SOTWFungi_2018_Full_Report\(1\).pdf](#)



[Fungal Tree of Life Poster \(ima-mycology.org\)](#)

4

Taksonomi

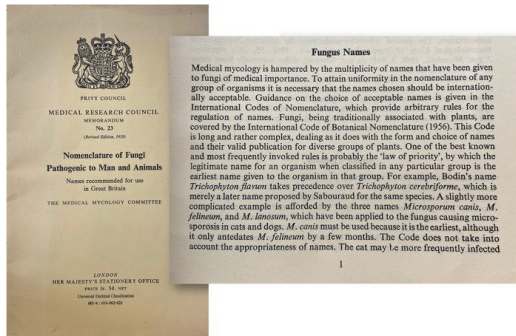


- Gresk: *Taxis* = ordne, *nomina* = lov
- Inndeling i taxa :
 - Domain: Eukaryota
 - **Kingdom: *Fungi***
 - **Subkingdom** (F.eks *Dikarya*)
 - Phylum: - *mycota* (F.eks *Ascomycota*)
 - Subphyla (F.eks *Saccharomycotina*)
 - Class: - *mycetes* (F.eks *Saccharomycetes*)
 - Order: - *ales* (F.eks *Saccharomycetales*)
 - Family: - *aceae* (F.eks *Debaromycetaceae*)
 - **Genus:** F.eks *Candida*
 - **Species** F.eks *Candida tropicalis* (type strain)

 Niskanen T, et al. 2023
Annu. Rev. Environ. Resour. 48:149–76 Foreslåtte sopp –phyla (tidligere 8)

5

Historisk sopp taksonomi



[J Clin Microbiol.](#) 2023 Jun; 61(6): e00330-22.

- Historisk: Inndeling etter utseende
 - Carl Linné: Systema Naturae 1735
 - Oppfatning: En art er statisk/fiksert
 - Charles Darwin: On the origin of species 1859
 - Evolusjon av arter over generasjoner
- En sopp: Kan ha hatt mange synonyme navn historisk
 - *Pichia kudriavzevii*
 - *Issatchenkia orientalis*
 - *Candida krusei*
 - *Pichia orientalis*
 - *Monilla africana*

6

Livsyklus sopp

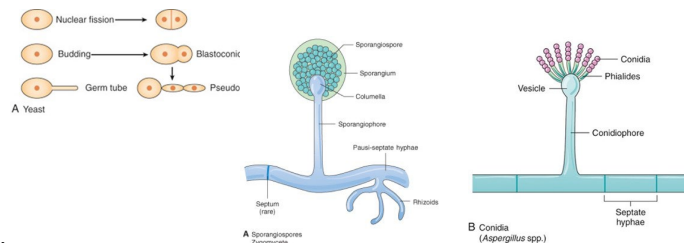
• Flere typer formering

• Aseksuell (anamorf):

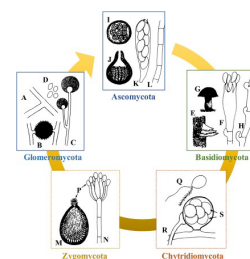
- Ukjønnet vegetativ formering
 - Konidier (evt sporangiospore)
 - Haploid «mor» blir identisk «datter»

• Seksuell (teleomorf)

- Kjønnset formering med seksuelle sporer
 - diploide zygoter gjennomgår meiose og blir haploide celler
 - Ascosporer, Basidiosporer, Zygosporer



Murray: Medical microbiology, 9th ed

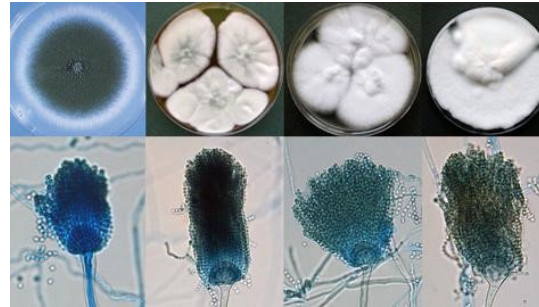


[Current Fungal Taxonomy and Developments in the Identification System | Current Microbiology \(springer.com\)](#)

7

Hva er en sopp art?

- Ingen universell akseptert definisjon
- Stor morfologisk variasjon
 - Avhenger av medie, temperatur, dyrkningstid med mer
 - Uni- til multicellulære
 - Ulike stadier i livssyklus
 - Seksuell reproduksjon:
 - Miljøavhengig
 - Kan tapes både naturlig eller i lab
- Aseksuell reproduksjon:
 - Gir også diversitet over tid via rekombinasjon/ mitose



Overlappende morfologi hos ulike arter innen *Aspergillus fumigatus* complex (a) *Aspergillus fumigatus*, (b) *Aspergillus lentulus*, (c) *Neosartorya fischeri* and (d) *Aspergillus felis*.

[Aspergillus | Mycology | University of Adelaide](#)

8

[Current Fungal Taxonomy and Developments in the Identification System | Current Microbiology \(springer.com\)](#)

Evolusjon hos sopp- 1000 millioner år

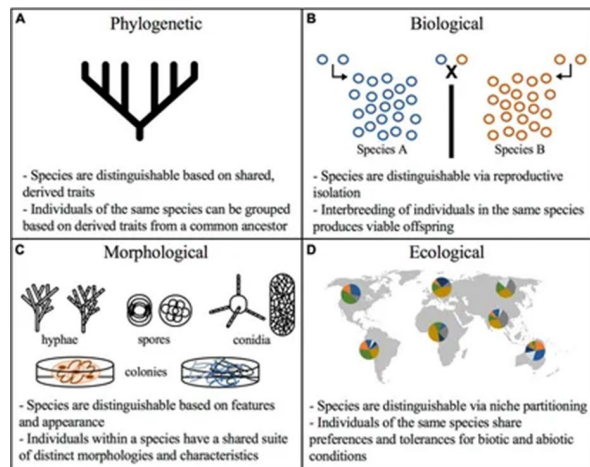
- Divergent evolusjon
 - Relaterte organismer blir mer ulike
- Konvergent evolusjon
 - Ikke-relaterte arter utvikler liknende egenskaper
- Morfologisk/fenotypisk identifikasjon:
 - Begrensninger med metode!
 - Fenotypisk likt utseende hos ulike arter
 - Fenotypisk ulikt utseende hos samme art
 - Påvirkes av miljø



9

Ulike species konsept hos sopp

- **Morfologisk/Fenotypisk**
- **Biologisk**
 - *In vivo*
 - *In silico*
- **Økologisk**
- **Fylogenetisk**
- **Genomisk**



10

Hvorfor endring?

- Taksonomiske nivå over species «tilfeldig» satt
 - Ulike genera har historisk blitt opprettet for arter med liknende morfologiske og/eller fenotypiske karakteristika.
 - Flere av disse genera er **polyfyletiske** ved molekylær tilnærming
 - Gjenoppbygging av **FTOL** basert på molekylær avstand
 - men mangler til dels kriterier for hva avstand skal være.
- Genomisk species konsept kan stabilisere sopp taksonomi
 - 2012,- konsensus om **ITS** som sopp DNA barkode

11

Molekylær taksonomi

- Ribosomale gener (18S rDNA, med ITS, D1/D2 sekvensering)
 - Korrelasjon ITS og andre species kriterier/ WGS for lite studert
 - Eksempel: *Fusarium* genus har opptil 10% ANI forskjell med WGS, men lite eller ingen sekvensvariasjon i ITS. Behov for **supplerende gener/sekundære barkoder**.
 - Beta tubulin (BT2, TUB), translasjon elongation factor 1-alfa (TEF1), actin (ACT1)
- Helgenomsekvensering
 - **1000 fungal genome project**: Sekvensert >500 genom spredt over FTOL.
 - [1000 Fungal Genomes Project - Home](#)
 - **Y1000 + project**: WGS av genom fra 1051 spp i subphylum *Saccharomycotina*
 - [Home \(wisc.edu\)](#)

12

Molekylære analyser på sopp har vist

- Stor genetisk variasjon innen «species» tidligere basert på fenotypi
 - Beskrivelse av nye species innen opprinnelig species
 - Påvisning av polyphyletiske genra (ikke alle arter innen en gruppe var relatert)
 - Korreksjon av taksonomiske «feil» basert på tidligere klassifikasjon
 - Eg *Candida albicans* og *Candida krusei* tilhører ikke samme art. En må bytte navn.
- Nye fyla, genra og species
 - Særlig mye trøbbel blant «fungi imperfecti» og «Candida»
- Behov for to navn forsvant
- To eller flere ulike navn for samme sopp ble forbudt fra jan 2013 av
 - *Filobasidiella neoformans*/ *Cryptococcus neoformans*
 - *Neosartoria fumigata* / *Aspergillus fumigatus*

13

One fungus, one name

- **Dobbel nomenklatur** har vært tillatt fordi morfologisk ulik ana- og teleomorf av samme sopp har blitt beskrevet og navngitt uavhengig av hverandre historisk
 - Begge vekstformer er like genetisk, og i **ettertid** har molekylære metoder har bevist slektskap mellom ana- og teleomorf
 - Teleomorf har hatt presedens (i GenBank/ andre databaser)
- **One Fungus- One name symposium 2011**
- **Amsterdam Declaration of Fungal Nomenclature 2011**
 - Dobbel nomenklatur forbys 2013
 - Teleomorf trenger ikke ha presedens over anamorf

14

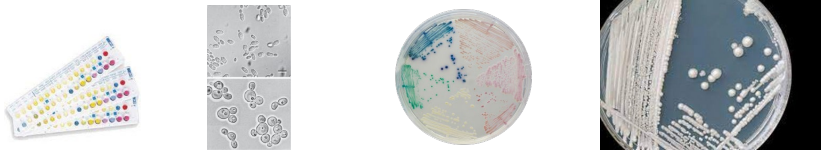
One Fungus–Which name(symposium 2012)

- Mange interesser i hva er «korrekt navn»
 - Medisin, landbruk, botanikk, dyrehelse, industri, mattrygghet
- **The Code**: International Code of Nomenclature for algae, fungi and plants:
 - Både ana og teleomorf kan foreslås
 - NCF: Nomenclature committee for fungi
 - ICTF: International Commission on the taxonomy of fungi
 - [Fungal Nomenclature \(ima-mycology.org\)](http://ima-mycology.org)
- Må bli enige der seksuelt navn har historisk presedens
 - Går stort sett greit
 - Vanskelig der viktige sopp (medisinsk, økonomisk) har etablerte seksuelle **og** aseksuelle navn
 - F.eks innen *Fusarium spp*

15

«Candida»

- Latin: Candidus: hvit/naiv
- Kunstig konstruksjon uten taksonomisk verdi
 - Stort, polyphyletisk genus med > 400 spp for mange gjærsopp uten kjent seksuell reproduksjon, aseksuell knoppsskyting og uten distinktiv morfologi
 - Siste tiår,- ca 50% av *Candida* spp omplassert i 36 eksisterende genera og 14 nye foreslåtte genera, men fortsatt mye polyphyli innen genus
 - *Candida* spp i nesten alle familier tilhørende subphylum *Saccharomycotina*

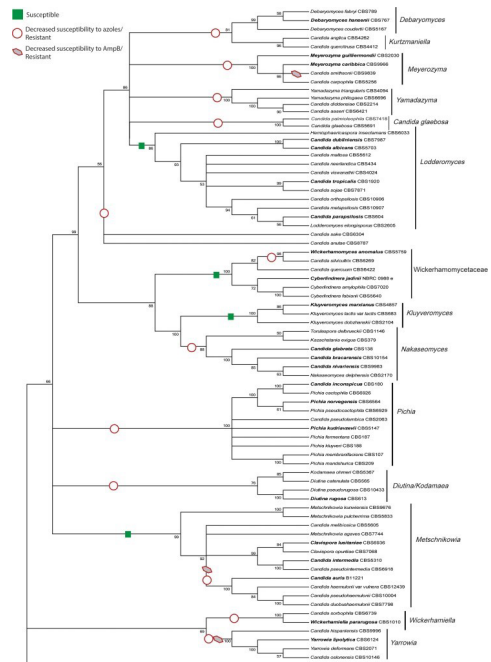


16

FEMS Yeast Res, Volume 19, Issue 4, June 2019, foz037, <https://doi.org/10.1093/femsyr/foz037>

Eksempel «Candida»

- Nye navn har fylogenetisk basis
- Logisk og bedre forståelse
 - Eg iboende resistens: samme genus
- *Candida albicans*: *Candida albicans*
- *Candida tropicalis*: *Candida tropicalis*
- *Candida glabrata*: *Nakaseomyces glabrata*
- *Candaia norvegensis*: *Pichia norvegensis*
- *Candia krusei*: *Pichia kudriavzevii*
- *Candida guilliermondii*: *Meyerozyma guilliermondii*
- *Candida lusitaniae*: *Clavispora lusitaniae*
- *Candida auris*: Foreslått nytt genus *Candidozyma auris*
 - 1 Metchnikowaceae



Del 2 - Innleggene/Bakgrunnsinformasjon

Recommended name	Member of complex	Synonyms	Link in atlas	Comment	Disease name
<i>Candida fermentati</i>	<i>C. fermentati</i> species complex	<i>Torula fermentati</i> , <i>Trichosporon appendiculare</i> , <i>Fermentotrichon appendiculare</i> , <i>Pichia caribbica</i> , <i>Meyerozyma caribbica</i>	view in atlas	Member of <i>Wickerhamomycetaceae</i> thus really remote from <i>Candida</i> . Should be in <i>Meyerozyma</i> . <i>Fermentati</i> is oldest epithet (1922), much older than <i>caribbica</i> (2005), this is an unstable situation. For now, use <i>fermentati</i> . Requires change in Atlas.	Candidiasis
<i>Candida auris</i>			view in atlas	Note that the species is phylogenetically remote from <i>Candida s.str.</i> , and has significant intraspecific variability; the name might be unstable.	Candidiasis
<i>Clavispora lusitanae</i>		<i>Candida parapsilosis</i> , <i>Candida obtusa</i> , <i>Candida lusitanae</i>	view in atlas	<i>Candida lusitanae</i> or <i>Clavispora lusitanae</i> . Species is phylogenetically remote from <i>Candida</i> , close to <i>C. auris</i> which might be changed to <i>Clavispora</i> , a relatively well-accepted genus. To prevent back-changing because of <i>C. auris</i> , preferably maintain <i>Clavispora lusitanae</i> .	Candidiasis
<i>Yarrowia lipolytica</i>		<i>Mycotorula lipolytica</i> , <i>Candida lipolytica</i> , <i>Monilia cornealis</i> , <i>Proteomyces cornealis</i> , <i>Endomycopsis lipolytica</i>	view in atlas	<i>Yarrowia</i> is phylogenetically correct, remote from <i>Candida</i> , and well-accepted.	<i>Yarrowia lipolytica</i> (N)
<i>Pichia kudriavzevii</i>		<i>Saccharomyces krusei</i> , <i>Endomyces krusei</i> , <i>Monilia krusei</i> , <i>Candida krusei</i> , <i>Myceloblastanion krusei</i> , <i>Geotrichoides krusei</i> , <i>Trichosporon krusei</i> , <i>Mycotoruloides krusei</i> , <i>Monilia inexpectata</i> , <i>Mycocandida inexpectata</i> , <i>Pseudomonilia inexpectata</i> , <i>Trichosporon dendriticum</i> , <i>Candida dendritica</i> , <i>Issatchenkia orientalis</i> , <i>Pichia orientalis</i>	view in atlas	<i>Candida krusei</i> or <i>Pichia kudriavzevii</i> . The oldest epithet is <i>krusei</i> (1910), but <i>Pichia krusei</i> existed already for another fungus. <i>Pichia orientalis</i> also existed already. <i>kudriavzevii</i> is a name change for <i>orientalis</i> (1963). Requires change in Atlas.	Candidiasis

[Nomenclature – names – Atlas of Clinical Fungi \(atlasclinicalfungi.org\)](#)

18

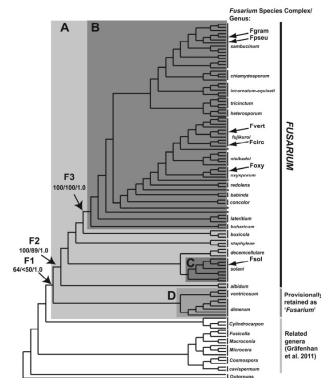
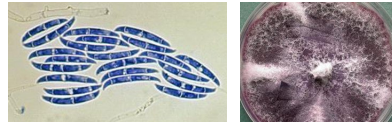
Eksempel Cryptococcus

Revidert navn	Tidligere navn	Kommentar
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>C.neoformans</i> var <i>grubi</i> (serotype A)	
<i>Cryptococcus deneoformans</i>	<i>C.neoformans</i> var <i>neoformans</i> (serotype D)	
<i>Cryptococcus gattii</i>	<i>C.gattii</i> (serotype B, mol type VGI)	Eks <i>C.gattii</i> spp complex «Cryptic» species,- ulike i prevalens, patogenisitet og antimykotiafølsomhet + er ulike i nyere molekylære analyser
<i>Cryptococcus bacilloporus</i>	<i>C.gattii</i> (serotype C, mol type VGIII)	
<i>Cryptococcus deuterogattii</i>	<i>C.gattii</i> (Serotype B, mol type VGII)	
<i>Cryptococcus tetragattii</i>	<i>C.gattii</i> (serotype C, mol type VGIV)	
<i>Cryptococcus decagattii</i>	<i>C.gattii</i> (Serotype B, mol type VGIV og VGIIIC)	Eksempler på > 100 <i>Cryptococcus</i> spp reklassifisert i nytt genus
<i>Naganishia albida</i>	<i>Cryptococcus albidus</i>	
<i>Cutaneotrichosporon curvatum</i>	<i>Cryptococcus curvatus</i>	
<i>Papilotrema laurentii</i>	<i>Cryptococcus laurentii</i>	

Navnet *Cryptococcus* genus forbeholdes patogene arter nært *C.neoformans*

19

Fusarium



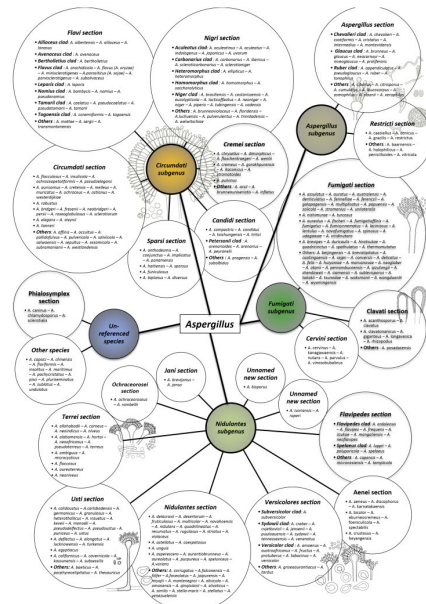
- Stort anamorft genus med mange ulike teleomorfer
 - Medisinsk og landbruksinteresser
- Type species = *F. sambunicum* (teleomorf *Gibberella*)
 - *Gibberella* eller *Fusarium* for alle med *Gibberella* teleomorf?
 - Hva med
 - *Fusarium solani* species complex (teleomorf *Neocosmospora*)
 - *Fusarium dimerum* species complex (foreslått navn *Bisifusarium*)
 - Krangel om avgrensning av genus,- hvilke noder i fylogenetisk tre gjelder. Ikke endelig avklart
 - Argumenterer for å holde *F. solani* sp complex i genus *Fusarium*

[PHYTO-07-12-0150-LE \(apsnet.org\)](http://apsnet.org)

Recommended name	Member of complex	Synonyms	Link in atlas	Comment	Disease name
Fusarium dimerum		Bisfusarium dimerum	view in atlas	Awaiting the dispute on <i>Fusarium phylogeny</i> ; name may be unstable.	Fusariosis

Aspergillus – Ett stort genus?

- En anamorf, minst 10 teleomorfer
 - *A. glaucus* (teleomorf *Eurotium*). **Type strain.**
 - *A. fumigatus* (teleomorf *Neosartorya*)
 - *A. nidulans* (teleomorf *Emmericella*)
- >250 spp organisert i 7 subgenera og seksjoner med relaterte species.
 - Genetisk avstand mellom klader er større enn for mange andre sopp genera
- Foreløpig beholdt ett genus for å unngå nomenklatur ustabilitet («bredt» konsept)



[Options Single name nomenclature in Aspergillus \(aspergilluspenicillium.org\)](http://aspergilluspenicillium.org)

[Previously unknown species of Aspergillus - ScienceDirect](#)

21

Konsekvenser av ny taksonomi

- Ukjente navn på «kjente» humanpatogene sopp
 - *Pichia kudriavzevii* (tidligere *C.krusei*) Endret i 2008
 - *Nakaseomyces glabrata* (tidligere *C.glabrata*). Ikke offisielt i mycobank ennå
 - *Talaromyces marneffe* (tidligere *Penicilium marneffe*)
 - *Magnusiomyces capitatus* (tidligere *Geotrichum capitatum*)
 - *Lomentospora prolificans* (tidligere *Scedosporium prolificans*)
- Hva gjør man med «candidiasis» etc
- Lærebøker, guidelines (EUCAST, ESCMID, CLSI mm) følger foreløpig ikke ny nomenklatur
- Fordel: Egenskaper hos ett genus følger mer av navnet
 - Eg alle *Pichia* spp er iverboende R mot fluconazol

22

Hva gjør vi?

- **Følg anbefalinger til foreslått global consensus**
 - [A conceptual framework for nomenclatural stability and validity of medically important fungi: a proposed global consensus guideline for fungal name changes supported by ABP, ASM, CLSI, ECMM, ESCMID-EFISG, EUCAST-AFST, FDLC, IDSA, ISHAM, MMSA, and MSGERC - PubMed \(nih.gov\)](#)
- Bruk **The Atlas** som oppslagsverk
 - [Nomenclature-database.pdf \(atlasclinicalfungi.org\)](#)
 - Kan også søke i databasen (men der er ikke anbefaling om rapportert navn med)
- Følg med på **ISHAM**
 - [Nomenclature of Clinical Fungi :: ISHAM](#)
- For uvanlige arter OK med nytt navn (om anbefalt i Atlas, men referer til det gamle)
 - *Magnusiomyces capitatus* (tidligere *Geotrichum capitatum*)
 - *Lomentospora prolificans* (tidligere *Scedosporium prolificans*)
- For vanlige eks "*Candida*" arter,- Norge bør legge om samtidig/ ikke før ref.lab gjør det

23

Nyttig litteratur



December 2023 Volume 36 Issue 4 e00959-22
<https://doi.org/10.1128/cmr.00959-22>

Changes in fungal taxonomy: mycological rationale and clinical implications

Andrew M. Borman^{1,2}, Elizabeth M. Johnson^{1,2}



Human Microbiome | Commentary

A conceptual framework for nomenclatural stability and validity of medically important fungi: a proposed global consensus guideline for fungal name changes supported by ABP, ASM, CLSI, ECMM, ESCMID-EFISG, EUCAST-AFST, FDLC, IDSA, ISHAM, MMSA, and MSGERC

- [Name Changes in Medically Important Fungi and Their Implications for Clinical Practice - PMC \(nih.gov\)](#)
 - [Name Changes for Fungi of Medical Importance, 2020 to 2021 - PubMed \(nih.gov\)](#)
 - [Name Changes for Fungi of Medical Importance, 2018 to 2019 - PubMed \(nih.gov\)](#)
 - [Name Changes for Fungi of Medical Importance, 2016-2017 - PubMed \(nih.gov\)](#)
 - [Name Changes for Fungi of Medical Importance, 2012 to 2015 - PubMed \(nih.gov\)](#)
- [A Genome-Scale Phylogeny of the Kingdom Fungi - PMC \(nih.gov\)](#)
- [A genome-informed higher rank classification of the biotechnologically important fungal subphylum Saccharomycotina - PMC \(nih.gov\)](#)

VEDLEGG: Saksfremlegg og møtereferater om AFI til nasjonalt forum for medisinsk mikrobiologi, FHI 5.des 2024 og 3. des 2025.

Saksfremlegg:

Opprettelse av en nasjonal Arbeidsgruppe for identifikasjon

Til: Deltakere på årsmøte i Nasjonalt forum for medisinsk mikrobiologi 5.des. 2024

Fra: Programkomiteen for Strategimøtet i bakteriologi 2024 - Ståle Tofteland (leder), Andre Ingebretsen, Therese Johansen, Kjersti Wik Larssen, Øyvind Kommedal.

Kopi: Fredrik Muller, Sandra Aasheim, Anne Torunn Mengshoel

Dato: 28.11.2024

SV:

Forslag til beslutning:

Nasjonalt Forum støtter opprettelsen av en Arbeidsgruppe for identifikasjonsspørsmål og metoder for identifikasjon (med fokus på MALDI-TOF MS identifikasjon) (heretter kalt AFI). Nasjonalt Forum ber om at medlemmer som oppnevnes gis mulighet i sitt arbeid til å bidra i en slik gruppe. Ved behov for reisevirksomhet, ber vi om at avdelingene støtter dette. Behovet antas ikke å bli stort, opptil 2 møter årlig som krever reise. Det meste av møte- og arbeidsvirksomheten vil foregå digitalt.

Bakgrunn:

Identifikasjon og resistensbestemmelse er begge tverrgående funksjoner i mikrobiologiske avdelinger som griper inn i diagnostikk uavhengig av infeksjonstype.

Resistensbestemmelsen har i lang tid vært harmonisert nasjonalt gjennom anbefalinger og opplæring fra AFA (Antibiotikagruppen for antibiotikaspørsmål og metoder for resistensbestemmelse) som jobber kontinuerlig med antibiotikaspørsmål og metodeoppdateringer innen resistensbestemmelse. I de seinere år har denne gruppen funksjon som en «NAC» (nasjonal brytningspunktkomite) under det europeiske samarbeidet innen resistensbestemmelse (EUCAST). Gruppen arbeider dessuten i et samarbeid med de andre nordiske land (gjennom NordicAST).

En liknende nasjonal gruppe med formål å harmonisere spørsmål angående identifikasjon inkludert metoderelaterte spørsmål har imidlertid ikke eksistert inntil nå. En slik arbeidsgruppe kunne jobbe for å spre kunnskap og harmonisere enkeltlaboratoriernes tilnærming til taksonomi, nomenklatur og svarrapportering (gi anbefalinger). En rekke taksonomiske endringer i nomenklatur skjer fortløpende,

og det vil derfor være et kontinuerlig pågående arbeid. Metode- og kvalitetsspørsmål knyttet til kurering av viktige massespekter databaser, intern opplæring av og informasjon til personell som utfører identifikasjonsarbeid, systemer for dialog og informasjon til rekvirenter, ensartede kvalitetsstandarder for benyttede identifikasjonsmetoder (primært for MALDI-TOF MS), ev også minstekrav til laboratoriene for å utføre identifikasjonsarbeid (eks anbefalinger om back-up) og til biosikkerhet kunne også være oppgaver for en slik gruppe.

I forbindelse med planleggingen av årets strategimøte om identifikasjon (avholdt 23.10.2024) så programkomiteen et behov for å etablere en slik gruppe, og søkte å klargjøre interessen for å etablere en slik kontinuerlig arbeidende gruppe gjennom en spørreundersøkelse til alle mikrobiologiske avdelinger og gjennom diskusjon og avstemming på selve møtet.

Spørreundersøkelsen viste at det var interesse for slik etablering, og i møtet var det enstemmig tilslutning blant representantene om et ønske om å etablere en slik gruppe, og programkomiteen fikk også enstemmig tilslutning i møtet til å utarbeide et forslag til mandat for gruppen og prinsipper for sammensetning av en slik gruppe som kunne tas videre i Nasjonalt forum for å hente faglig støtte og forankring der. En høring av dette saksfremlegget er på høring til representanter på Strategimøte, og denne høringen er avsluttet før møtet (5.desember).

Det er usikkert hvorfor man ikke har hatt en nasjonal koordinering av identifikasjonsarbeidet tidligere. Forut for innføring av MALDI-TOF MS identifikasjon arbeidet man etter de samme faglige basale prinsipper med metabolisme/biokjemisk -orientert identifikasjon, men det var likevel ulik instrumentering og tilnærming i laboratoriene. Dette kan være en årsak. Etter paradigmeskiftet som innføringen av MALDI-TOF MS basert identifikasjon var, ble identifikasjonsarbeidet enda mer *ensrettet* i de kliniske mikrobiologiske avdelingene - i tillegg til den øket kvaliteten og tempo/klinisk relevans (og de reduserte kostnadene) som kom som konsekvens av den. Dette aktualiserer i seg selv til økt samarbeid. I tillegg eksponeres laboratoriene direkte for taksonomiske endringer ved årlige oppdateringer av standard-databaser fra leverandører og ikke ved bruk av ikke-kommersielle databaser. Dette gir betydelige praktiske utfordringer, og vi tenker at dette vil være en viktig arbeidsoppgave for en nasjonal arbeidsgruppe å koordinere, og gi anbefaling om klinisk hensiktsmessig og harmonisert svrapportering. Vi tror arbeidet totalt sett vi representere en stor arbeidsbesparelse, effektivisering og kvalitetsmessig forbedring av dette arbeidet. Medlemmene i Arbeidsgruppen vil ha en pådriverrolle i koordinering og harmonisering, og vi vil be om at Nasjonalt Forum oppfordrer laboratoriene til å prioritere tid for medlemmer i deres laboratorier som ønsker og/eller blir bedt om delta i Arbeidsgruppen til enhver tid.

Spørreundersøkelsen forut for strategimøtet antydte en viss skjevdeling når det gjelder basal kompetanse innen MALDI-TOF MS teknologien, og mye av den spesifikke kompetansen finnes, ikke unaturlig, mest tilknyttet universitetsmiljøene. De vi antakelig få en større rolle i gruppen.

Mandat:

Arbeidsgruppen skal arbeide kontinuerlig og gi årlige anbefalinger om viktige endringer innen taksonomi og nomenklatur som bør gjennomføres i laboratoriene, og videre gi anbefalinger for en enhetlig klinisk svrapportering (for eksempel art/sub-art/artskompleks). I tillegg til å være enhetlig på mikrobenvå, kan det være relevant å harmonisere klinisk kommentering som gjelder virulens/assosiert klinisk tilstand/syndrom og iboende/assosiert resistens (dette siste naturlig i samarbeid med AFA). Arbeidsgruppen skal vurdere mulighet for og hensiktsmessigheten av ytterligere oppgaver. Eksempler kan være kvalitetssikringsstandarder, håndtering av IVDR, opplæring av spesifikke metodeforhold, håndtering av databaser som ikke er standarddatabaser fra leverandør,

bruk av ikke-kommersielle databaser, generering og bruk av egengenererte og andres spektre mm. Arbeidsgruppen bør samarbeide med relevante aktører gjennom høringer (f.eks. overvåkningssystemer (eks NORM) og AFA. Svarrapportering på arts-nivå gir muligheter for en rekke artsspesifikke kliniske kommentarer (assosiert sykdom og resistens) og tilnærmingen bør ikke kollidere med en gitt overvåkingspraksis.

Sammensetning:

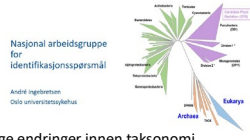
Det er viktig å få sammensatt en tilstrekkelig sterk faglig gruppe: forslaget vil være 4 medisinsk mikrobiologer, 1 mikrobiolog/bioinformatiker, 1 bioingeniør. Ved behov vil man kunne knytte til seg medlemmer/hospitanter/observatører med spesialkompetanse. Medlemmene bør ha en viss arbeidsdeling, og samarbeide med kjente ressurspersoner i laboratoriene (som ikke sitter i gruppen). Minst ett medlem bør komme fra et ikke-universitetslaboratorium for å ivareta disse laboratorienes perspektiv. Det bør bestrebes geografisk representasjon fra alle helseregioner. Arbeidsgruppen kan foreslå en utvidelse med kliniker/infeksjonsmedisinere for å ivareta dette perspektivet, ev at overvåkningorganer skal ha fast representasjon, hvis dette anses hensiktsmessig eller nødvendig.

Oppnevning:

Oppnevningstid bør være 4 år med mulighet til forlengelse. Mikrobiolog Andre Ingebretsen er interessert i å lede gruppen i en oppstartsfase. Han har vært sentral gjennom flere år for å etablere fagfelleskap og har solid metodekunnskap for MALDI TOF MS identifikasjon, identifikasjon ved helgenomsekvensering, samt taksonomikunnskap. Når gruppen er fungerende (inntil 4 år) bør medlemmer til gruppen utnevnes gjennom fagmiljøet i klinisk mikrobiologi. Det bør jobbes mot at medlemmer utnevnes etter modell fra AFA. Hvorvidt dette skal eller kan skje via Helsedirektoratet kan diskuteres i møtet.

Del 2 - Innleggene/Bakgrunnsinformasjon

Saksfremlegg nasjonalt forum
2025



- **MANDAT:** Arbeidsgruppen skal
 - arbeide kontinuerlig og gi årlige anbefalinger om viktige endringer innen taksonomi og nomenklatur som bør gjennomføres i laboratoriene.
 - gi anbefalinger for en enhetlig klinisk svrapportering (for eksempel art/sub-art/artskompleks).
 - vurdere mulighet for harmoniserte kvalitetssikringsstandarder, håndtering av IVD, opplæring av spesifikke metodeforhold, håndtering av databaser som ikke er standarddatabaser fra leverandør, bruk av ikke-kommersielle databaser, generering og bruk av egenerte og andres spektre mm.
 - samarbeide med relevante aktører gjennom høringer (f.eks. overvåkningsystemer (saks NORM) og AFA.

Sammensetning av arbeidsgruppen-mandat

- Det er viktig å få sammensatt en tilstrekkelig sterk faglig gruppe
- Forslag:
 - 4 medisinsk mikrobiologer
 - 1 mikrobiolog/bioinformatiker
 - 1 bioingenør
- Liten interesse blant medisinske mikrobiologer



Arbeidsgruppen

- Audun Sivertsen, Overlege med.mikrobiologi, Haukeland
- Torbjørn Sæle Bruvold, Bioingeniør, Haukeland
- Johanne Marie Iversen, LIS med. mikrobiologi, Nordlandssykehuset
- Hege Elisabeth Larsen, Bioingeniør, Nordlandssykehuset
- Jørgen V. Bjørnholt, Overlege med.mikrobiologi, OUS
- Heidi Otterås, Bioingeniør, OUS
- Kjersti Haugum, Molekylærbiolog, St.Olav
- André Ingebretsen, Mikrobiolog/molekylærbiolog, OUS (leder)

Hva er gjort hittil?

- Ikke mye, men....
- Videreføring av arbeidet startet ved OUS
 - Differensiering av data/identifikasjon som gis ut til kliniker og hva som mikrobiologen beholder selv
 - Gå bort fra å svare ut artskompleks hvis mulig
 - Gå bort fra Lancefield gruppering av Streptokokker
 - Introduksjon av nye navn på arter med standardkommentar inkl. gammelt navn



Plan for 2026

- Fysisk heldags oppstartsmøte i januar/februar
- Årshjul-møteplan
 - Minst ett fysisk møte for arbeidsgruppen
 - Regelmessige møter på Teams
 - Nasjonalt åpent heldagsmøte 2027
- Kommunikasjonsplan
 - Nettside?
 - Webinarer
 - Rapport om viktigste forandringer i bakteriell/sopp taksonomi 2026
- Kunnskapsbase
 - Viktige publikasjoner 2025-2026

Komplekst arbeid

- Avhenger av:
 - ECDC/FHI/MSIS – overvåkning
 - AFA/EUCAST – AST-definisjoner
 - Internasjonale retningslinjer for taksonomi og godkjente navn
 - Sekvensdatabaser
 - MALDI databaser
 - Større internasjonale harmoniseringsprosjekter
 -og ressurser.....
 -og forutsigbarhet....



Nasjonalt forum for medisinsk mikrobiologi

Referat fra møtet på FHI torsdag 5. desember 2024

Fysisk/Teams - møte

Tema	Referat	Moderator
Til stede	Møtet er fysisk. Noen få deltagere er på Teams: Irene Høyland Løhr (SUS), Elling Ulvestad (Bergen), Einar Nilsen (Molde), Carina Thilsen (Unilabs), Milad Chedid Ghantous (Haugesund) Fysisk til stede: Cecilie Torp Andersen (OUS - RH), Roar Bævre-Jensen (Vestre Viken), Anita Kanestrøm (Kalnes), Grete Kro (OUS, ref.gr), Hans-Johnny Nilsen (St.Olavs), Kjersti Wik Larssen (St.Olavs, ref.gr), Trine LAbee-Lund Normann (FHI, direktør bakt), Ståle Tofteland (SSHF), Kamila Karolewska (Førde), Rikard Rykkvin (FHI - virologi), Astrid Wester (AHUS), Paula Hillestad (Fürost), Åshild Marvik (SiV), Kristine Schiøtz (OUS-Ullevål), Christine Jonassen (FHI direktør virus), Fredrik Müller (OUS, møteleder og AU), Anne Torunn Mengshoel (FHI, møteleder og leder av AU), Sandra Åsheim (NLSH, AU og referent) Deltok ikke på møtet: Gunnar Skov Simonsen (UNN) og Tine Dons (Lillehammer)	
17/24 Identifikasjon bakterier og sopp: harmonisering av rapportering fra ulike metoder	Ved Strategimøtet i oktober ble det enstemmig vedtatt at det bør jobbes før å opprette en nasjonal Arbeidsgruppe for identifikasjonsspørsmål og metoder for identifikasjon (heretter kalt AFI). Gruppen skal harmonisere spørsmål angående identifikasjon inkludert metoderelaterte spørsmål. Det er ønskelig med forankring i Nasjonalt forum. Mandat presenteres. Medlemmer som oppnevnes må få avsatt tid til å bidra i gruppen og det må påberegnes reisevirksomhet som må dekkes fra eget helseforetak – ca 2 ggr/år. Det meste av møte- og arbeidsvirksomheten vil foregå digitalt. Sammensetning av AFI blir diskutert. Bl.a foreslås 4 medisinsk mikrobiologer, 1 mikrobiolog/bioinformatiker, 1 bioingeniør. Ved behov vil man kunne knytte til seg medlemmer/hospitanter/observatører/klinikere med spesialkompetanse. Minst ett medlem bør komme fra et ikke-universitetslaboratorium for å ivareta disse laboratorienes perspektiv. Det bør bestrebes geografisk representasjon fra alle helseregioner. Oppnevningstid bør være 4 år med mulighet til forlengelse. Det bør jobbes mot at medlemmer utnevnes etter modell fra AFA.	Ståle Tofteland/Kjersti Wik Larssen

	Forslag til Mandat: Arbeidsgruppen skal arbeide kontinuerlig og gi årlige anbefalinger om viktige endringer innen taksonomi og nomenklatur som bør gjennomføres i laboratoriene, og videre gi anbefalinger for en enhetlig klinisk svarrapportering (for eksempel art/sub-art/artskompleks). I tillegg til å være enhetlig på mikrobenivå, kan det være relevant å harmonisere klinisk kommentering som gjelder virulens/assosiert klinisk tilstand/syndrom og iboende/assosiert resistens (dette siste naturlig i samarbeid med AFA). Arbeidsgruppen skal vurdere mulighet for og hensiktsmessigheten av ytterligere oppgaver. Eksempler kan være kvalitetssikringsstandarder, håndtering av IVDR, opplæring av spesifikke metodeforhold, håndtering av databaser som ikke er standarddatabaser fra leverandør, bruk av ikke-kommersielle databaser, generering og bruk av egengenererte spektre mm. Arbeidsgruppen bør samarbeide med relevante aktører gjennom høringer (f.eks. overvåkningssystemer (eks. NORM) og AFA. Svarrapportering på arts-nivå gir muligheter for en rekke artsspesifikke kliniske kommentarer (assosiert sykdom og resistens) og tilnærmingen bør ikke kollidere med en gitt overvåkningspraksis. Spørsmål/kommentarer/diskusjoner: Det blir diskutert om forankring skal være hos Helsedirektoratet (HDir), helseforetakene (HF) eller NFMM. Det er uklart om hvem som skal finansiere kursvirksomhet. Man forventer at HF må stå for finansiering til reiser. Medlemmer: Viktig med ikke for stor gruppe, men referansefunksjonsperson og Msis-labdatabase bør vurderes som fast medlem. Kliniker med som i AFA-gruppen må absolutt vurderes. Andre medlemmer kan tas inn på sak Nasjonalt forum støtter enstemmig mandatet med 19 stemmer. Under møtet blir det besluttet at AFI Ligger under Nasjonalt forum som midlertidig underutvalg. Fremdrift presenteres på neste møte. Nasjonalt forum ber om at medlemmer oppnevnes og reisevirksomhet støttes. Det kom noen innspill via høring på mail: AHUS ønsket at gruppa bør ledes av en medisinsk mikrobiolog. Dette for å best ivareta det kliniske perspektivet.	
--	---	--

Årsmøte Nasjonalt forum for medisinsk mikrobiologi

Referat fra møtet onsdag 3. desember 2025

Folkehelseinstituttet kl 09:30-16:00

Lovisenberggt. 8, møterom 1025

Arbeidsutvalget: Sandra Åsheim, Fredrik Müller, Anne Torunn Mengshoel

Sak	Referat	Innlegg av
Til stede	Møtet er fysisk. Det blir prøvd ut transkripsjon og referatskriving med Copilot. Alle deltakere er varslet om at transkripsjon er aktivert. Irene Høyland Løhr (SUS), Milad Chedid Ghantous (Haugesund), Erling Høyer (St.Olavs), Kristine Schiøtz (OUS-Ullevål), Rikard Rykkvin (FHI), Åshild Marvik (SiV), Truls Leegaard (AHUS), Roar Bævre-Jensen (Vestre Viken), Anita Kanestrøm (Kalnes, ref.gr), Hans-Johnny Schjelderup Nilsen (Fürost), Kjersti Wik Larssen (St.Olavs, ref.gr), Trine Labee-Lund (FHI), Ståle Tofteland (SSHF), Christine Jonassen (FHI), Gorm Hansen (OUS), Tore Lier (UNN), Marjolein Damen (Innlandet), Fredrik Müller (OUS, møteleder og AU), Anne Torunn Mengshoel (FHI, møteleder og leder av AU), Sandra Åsheim (NLSH, AU og referent) Ingen deltagere på Teams. Deltok ikke på møtet: Haukeland, Førde, Levanger og Molde	
6/25: Oppfølging sak 17/2024 Identifikasjon bakterier og sopp: harmonisering av rapportering fra ulike metoder	Det ble i forrige møte bestemt at det skal opprettes en nasjonal arbeidsgruppe for harmonisering av rapportering fra ulike mikrobiologiske metoder. Mandat blir gjennomgått. Det er satt sammen en landsdekkende gruppe som presenteres. Lege og bioingeniør er lokalisert på samme steder mtp å dra veksel på hverandre. Gruppen jobber på nasjonalt nivå. Videreføring av arbeid gjort på OUS. Det ses på differensiering av data / identifikasjon som gis ut til kliniker og hva som mikrobiologen beholder selv. Forslag om å gå bort fra å svare ut artskompleks hvis mulig samt forslag om å gå bort fra Lancefield gruppering av streptokokker. Introduksjon av nye navn med standardkommentar inkludert gammelt navn. Det er et komplekst arbeid som avhenger av mange databaser. Fremdriftsplan til neste år blir presentert. For kommunikasjon er det ønskelig med en nettside liknende den AFA har. Det trenges midler til dette. Webinar og rapporter om viktigste forandringer i bakteriell/sopp taksonomi vurderes.	Andre Ingebretsen, OUS

	Spørsmål/kommentarer: Er det tenkt på dette med artskompleksitet? Skal det besvares med komplekser for å unngå at samme pasient får ulike svar på mikrobe som inngår i samme kompleks? Vi må diskutere dette mer inngående om vi skal bruke artskompleksitet eller ikke. Det er viktig at klinisk svarrapportering forstås av kliniker. Det vurderes å beholde riktig info på mikrobiologiske svar der man svarer ut artsnavn artsavhengig. Vi må bli enige i Norge og forholde oss til samme utsvaring. Mange klinikere dropper «kompleks» når de skriver i pasientjournalen. Kliniker bør være med i arbeidsgruppen.	
--	---	--

Utgitt av Folkehelseinstituttet
Mars 2026
Postboks 222 Skøyen
NO-0213 Oslo
Telefon: 21 07 70 00

Rapporten kan lastes ned gratis fra www.fhi.no