

Inkomna abstracts till vårmötet 2019

När ordinarie deadline passerat hade 22 abstracts inkommit. Under den förlängda anmälningstiden har 17 tillkommit. Efter deadline har ytterligare 4 abstracts skickats in. Dessa har accepterats som poster.

Inkomna abstracts har bedömts av en grupp bestående av representanter från de mikrobiologiska föreningarna FKM, RFM och SFM. Vid förslag på redovisningsform har hänsyn tagits författarnas önskemål, studiens inriktning samt kvalitet.

Följande bedömningsmall har använts

Abstract no	Kvalitet	Presentationsform	Infektionssession
Löpande nummer	Anges som i femgradig betygsskala från 1 som är icke acceptabel till 5 som är toppklass. Sätt frågetecken om resultat saknas. Är du jävig ange detta och bedöm inte.	Anges i ett av tre alternativ: P; för poster, O för muntlig (oral) och PO för muntlig eller poster.	Anges som Ja eller Nej beroende på om innehållet lämpar sig för presentation på session tillsammans med SILF på onsdagseftermiddagen

Tabell över accepterade abstracts

Abstracts som valts ut till fria föredrag, mikrobiologi. Onsdagen den 15/5 kl 08.30-10.00		
Abstract no	Titel	Kontaktperson
MI-01	Clinical validation of the full genotyping CLART4S HPV assay on Surepath and Thinprep samples according to the international guidelines for human papilloma test requirements for cervical screening	Camilla Lagheden / camilla.lagheden@ki.se
MI-02	Bra överensstämmelse mellan Biofire® FilmArray® och QIAstat-Dx (DIAGCORE®) Luftvägs- och gastroenteritpaneler – problematiskt att verifiera diskrepanta fynd från feces.	Håkan Janson / hakan.janson@kronoberg.se
MI-03	Ett mikrofluidiskt test med hög kapacitet för snabb antibiotikakänslighetsbestämning	Christer Malmberg / christer.malmberg@mcb.uu.se
MI-04	Phenotypic detection of colistin resistance in <i>Escherichia coli</i> and <i>Klebsiella pneumoniae</i> requiring only 30 minutes of antibiotic exposure	Sofia Somajo / sofia.somajo@kronoberg.se
MI-05	Multi-laboratory evaluation in southern Europe of the EUCAST method for rapid antimicrobial susceptibility testing directly from positive blood cultures.	Anna Åkerlund / anna.akerlund@rjl.se
MI-06	Helgenomsekvensering av <i>Clostridium difficile</i> ger mer detaljerad information än Ribotypning	Martin Sundqvist / martin.sundqvist@regionorebrolan.se

Abstracts som valts ut till fria föredrag, infektion och mikrobiologi. Torsdagen den 16/5 kl 08.30-10.00

Abstract no	Titel	Förstanamn /Kontaktperson
MI-07	Infektiös endokardit orsakat av <i>Streptococcus dysgalactiae</i> ; ett akut och aggressivt tillstånd	Anna Bläckberg / anna.blackberg@med.lu.se
MI-08	EV-D68: en studie av intra- och interpatient-evolution med djup helgenomsekvensering	Robert Dyrdak / robert.dyrdak@ki.se
MI-09	Strain-specific degradation of meropenem in broth microdilution: a factor possibly influencing generated MICs	Oskar Ekelund / oskar.ekelund@kronoberg.se
MI-10	Nationell spridning av vankomycinresistenta <i>Enterococcus faecium</i> 2017-2018	Petra Edquist / petra.edquist@folkhalsomyndigheten.se

Abstracts som valts ut till Posterpresentation, tisdagen den 14/5 med start kl 18.00

Posterämne: MRB screening och typning

Abstract no	Titel	Förstanamn /Kontaktperson
MI-P201	Whole-genome sequencing to elucidate a potential MRSA outbreak	Sara Mernelius / sara.mernelius@rjl.se
MI-P202	Clonal endemic outbreak of tobramycin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> in a Swedish neonatal intensive care unit	Anna Jogenfors / anna.jogenfors@rjl.se
MI-P203	Helgenomsekvensering (WGS) - erfarenheter efter ett år i klinisk rutin	Jenny Welander / jenny.welander@regionostergotland.se
MI-P204	Evaluation of the eazyplex® MRSAplus assay for rapid identification of methicillin resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) and detection of the virulence factor Pantone-Valentine leukocidin (PVL) in clinical isolates.	Hilde Riedel / hilde.riedel@akademiska.se
MI-P205	Helgenomsekvensering "One analysis fits all" – Ett år med rutinmässig epidemiologisk typning öppnade upp för andra användbara applikationer inom MRB-diagnostiken	Patrik Jonsson / aina.iversen@sll.se

Posterämne: Tropikmedicin, parasitologi och fecesdiagnostik		
Abstract no	Titel	Förstanamn / Kontaktperson
MI-P206	Comparative evaluation of five serological tests for the diagnosis of leishmaniasis in a non-endemic setting	Leigh Davidsson / leigh.davidsson@folkhalsomyndigheten.se
MI-P207	<i>Cyclospora cayentanensis</i> infections in Sweden – underdiagnosed or uncommon?	Therese Bergstrand / therese.bergstrand@folkhalsomyndigheten.se
MI-P208	Diagnostik av EHEC – screening, direkt frågeställning eller både och?	Åsa Valve / asa.valve@regionkalmar.se
MI-P209	Förekomst av chikungunya hos svenska resenärer vintersäsongen 2018/2019	Maria Andersson / sandra.soderholm@folkhalsomyndigheten.se
MI-P210	Molekylärepidemiologi av denguevirus i Afrika baserat på resenärer inkommande till Sverige	John Pettersson / john.pettersson@folkhalsomyndigheten.se
MI-P211	Restoration of the gut microbiome by fecal microbiota transplantation, in <i>Clostridium difficile</i> infected patients, was initiated by a community shift involving six key bacterial families.	Malin Bergman Jungeström / malin.bergman.jungestrom@regionostergotland.se
Posterämne: CNS-infektioner inklusive Borrelia		
Abstract no	Titel	Förstanamn / Kontaktperson
MI-P212	Serodiagnosis of Lyme borreliosis – is IgM in serum more harmful than helpful?	Henrik Hillerdal / henrik.hillerdal@rjl.se
MI-P213	Detection of <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato in a recently established population of the taiga tick, <i>Ixodes persulcatus</i> in Sweden	Peter Wilhelmsson / peter.wilhelmsson@liu.se
MI-P214	CXCL13 i diagnostik av neuroborrelios - utvärdering av ReaScan CXCL13 på färsk, frusna respektive kylförvarade likvorprover	Anna J Henningsson / anna.jonsson.henningsson@rjl.se
MI-P215	Förhöjt CXCL13 i likvor - om inte neuroborrelios, vad är det då?	Anna J Henningsson / anna.jonsson.henningsson@rjl.se
MI-P216	Serological profile of TBE-infected patients in a vaccinated community – can you tell the difference?	Bo Albinsson / bo.albinsson@akademiska.se
Posterämne: Bakteremi och sepsis		
Abstract no	Titel	Förstanamn / Kontaktperson
MI-P217	Dags att byta till blododling med ett stick!	Claes Henning / claes.henning@vgregion.se
MI-P218	Snabbare svarstider för blododlingar efter utlokalisering av blododlingsskåp inom Karolinska Universitetslaboratoriet	Karolina Ininbergs / karolina.ininbergs@sll.se

Posterämne: Antibiotika - behandling och resistensbestämning		
Abstract no	Titel	Förstanamn / Kontaktperson
MI-P219	Utvärdering av BD Phoenix™ för automatiserad resistensbestämning	Susann Skovbjerg / susann.skovbjerg@vgregion.se
MI-P220	Utvärdering av Amplidiag H. pylori+ClariR för diagnostik av H. pylori i vävnad	Karin Amilon / karin.amilon@sll.se
MI-P221	Införande av ny metod för påvisande av <i>Mycoplasma genitalium</i> makrolidresistens på Klinisk mikrobiologi Karolinska Universitetslaboratoriet	Penelope Ann Shah / penelope.puray-shah@sll.se
MI-P222	Utvärdering av metoder för resistenspåvisning av makrolider i <i>Mycoplasma genitalium</i>	Björn Herrmann / bjorn.herrmann@medsci.uu.se
Posterämne: HIV och hepatit		
MI-P223	Uppföljning av kronisk hepatit B med HBV-DNA och kvantitativt HBsAg	Amanda Nyström / amanda.nystrom@regionkalmar.se
MI-P224	Införande av ny metod för HDV-RNA kvantifiering på Klinisk mikrobiologi Karolinska Universitetssjukhuset	Annie Hsieh / annie.hsieh@sll.se
Posterämne: Luftvägsinfektioner		
MI-P225	Verifiering av Quantiferon-TB Gold Plus med CLIA på plattformen Liaison XL	Sandra Brantestig / sandra.brantestig@sll.se
MI-P226	Kan gallöslighetstest användas för att skilja <i>Streptococcus pneumoniae</i> från <i>Streptococcus pseudopneumoniae</i> ?	Rebecca Johansson Andersson / carina.lindqvist-ivarsson@kronoberg.se
Posterämne: Verksamhets- och kompetensutveckling		
MI-P227	Metagenomic sequencing for pathogen detection in clinical samples	Maria Lind Karlberg / maria.lind.karlberg@folkhalsomyndigheten.se
MI-P228	GENSAM - Gemensam nationell hantering av sekvenseringsdata inom klinisk mikrobiologi	Carlo Berg / carlo.berg@folkhalsomyndigheten.se
MI-P229	Den nya kompetensutvecklingsmetoden på Klinisk mikrobiologi i Linköping	Martina Nylander / martina.nylander@regionostergotland.se
MI-P230	Stort intresse för en nationellt reglerad specialistutbildning hos yrkesverksamma biomedicinska analytiker och biomedicinska analytikerstudenter	Marcus Rehnberg / maysae.quttineh@rjl.se
Posterämne: Övrigt		
MI-P231	Unbiased RNA sequencing of HPV negative Cervical Cancers	Camilla Lagheden / camilla.lagheden@ki.se
MI-P232	Framgångsrik behandling av mukormykos med radikal kirurgi samt lokal och systemisk antimykotika	Åsa Gylfe / asa.gylfe@umu.se
MI-P233	Isolation of a novel variant of neurotropic JC polyomavirus from a brain biopsy	Anders Bergqvist / anders.bergqvist@akademiska.se

(MI-01) Clinical validation of the full genotyping CLART4S HPV assay on Surepath and Thinprep samples according to the international guidelines for human papilloma test requirements for cervical screening

Camilla Lagheden (1), Ditte Møller Ejegod (3), Helle Pedersen (3), Kate Cuschieri (4), Ramya Bhatia (4), Joakim Dillner (1,2), Jesper Bonde (3).

(1) Department of Laboratory Medicine, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden (2) Department of Laboratory Medicine, Karolinska University Hospital, Stockholm, Sweden (3) Molecular Pathology Laboratory, Department of Pathology, Copenhagen University hospital, Hvidovre, Denmark (4) HPV Research Group, Division of Pathology, University of Edinburgh, Edinburgh, Scotland

Background/Objectives: Novel HPV assays intended for cervical screening use must be evaluated in concordance with the International guidelines for Human Papilloma Virus test requirements for cervical cancer screening (Meijer et al. 2009). The CLART HPV4S assay (Genomica, Madrid, Spain) is a PCR based microarray assay targeting the L1 region, and is a full-genotyping assay detecting 13 oncogenic HPV individually. Here we present the outcome of the validation of this novel full-genotyping assay on both ThinPrep and SurePath collected screening samples, using the MGP-PCR (Modified general primers (GP5+/6+) and Luminex) as comparator. The genotype concordance between CLART4S and MGP-PCR Luminex was also assessed.

Methods: To assess the performance of the CLART4S assay, LBC-samples from women 30 years and above were collected. SurePath samples were collected from Danish women participating in the Danish cervical cancer screening program at Copenhagen University hospital, Hvidovre, and ThinPrep samples were collected from Swedish women participating in the Swedish cervical screening program, Karolinska University Hospital, Stockholm. For the clinical sensitivity analysis, 81 SurePath, and 80 ThinPrep samples from women with confirmed CIN2 or greater histological follow-up were collected. For the clinical specificity analysis, 1184 SurePath, and 1169 ThinPrep samples from women with less than CIN2 histology were collected. The assay results for both media were compared to (MGP-PCR) Luminex assay at Karolinska Institute, Stockholm. The laboratory reproducibility was assessed by individual samples with known (MGP-PCR) Luminex results. A minimum of 150 positive samples (30%) and 350 negative samples were required, 540 SurePath and 500 ThinPrep samples were collected. The inter-laboratory agreement was performed in collaboration with the Scottish HPV reference Laboratory in Edinburgh, Scotland.

Results: The relative sensitivity of CLART4S for SurePath was 91% ((MGP-PCR) Luminex=93%) and relative specificity was 91% ((MGP-PCR) Luminex =91%). The relative sensitivity of CLART4S for ThinPrep was 98% ((MGP-PCR) Luminex 100%) and relative specificity was 94% ((MGP-PCR) Luminex =87.0%). The CLART4S assay was shown to be non-inferior to that of (MGP-PCR) Luminex for both sensitivity and specificity for both SurePath (sensitivity: $p=0,02$, specificity: $p=0,01$) and ThinPrep (sensitivity: $p=0,01$, specificity: $p=0,01$). The genotype specific concordance between CLART4S and (MGP-PCR) Luminex were good for 12 oncogenic HPV types. The Kappa value for intra-laboratory reproducibility was 0.84 (lower confidence bound 0.92) and for the inter-laboratory agreement the kappa value was 0.72 (lower confidence bound 0.87) for SurePath (Hvidovre) and for ThinPrep (Stockholm) the intra-laboratory reproducibility was 0.70 (lower confidence bound 0.90) and for the inter-laboratory agreement the kappa value was 0.81 (lower confidence bound 0.93).

Conclusion: This is the first clinical validation study of a full-genotyping HPV assay on both SurePath and ThinPrep samples, media specific software is required. Using (MGP-PCR) Luminex as comparator, the CLART4S performed well and met the International guidelines for sensitivity, specificity, intra-laboratory reproducibility and inter-laboratory agreement for both media types. The CLART HPV4S assay is therefore a good candidate for use in cervical cancer screening programs, especially programs utilizing genotype information in the screening algorithms.

Korrespondens: camilla.lagheden@ki.se

[Tillbaka till index](#)

(MI-02) Bra överensstämmelse mellan Biofire® FilmArray® och QIAstat-Dx (DIAGCORE®) luftvägs- och gastroenteritpaneler – problematiskt att verifiera diskrepanta fynd från feces.

Håkan Janson (1), Viktoria Nilsson (1).

(1) Klinisk Mikrobiologi, Region Kronoberg, Centrallasarettet i Växjö

Bakgrund: Kassettbaserade multiplexpaneler för syndrombaserad diagnostik har blivit en naturlig del av den kliniskt mikrobiologiska verksamheten. Införandet av testerna hämmas av svårigheter med att verifiera alla ingående agens då vissa av dem är sällsynta och att ordinarie diagnostik för detta ändamål saknas på laboratoriet. Flerlabsjämförelser är inte heller alltid lösningen eftersom diskrepanser är vanliga, speciellt när multipla agens detekteras i samma prov. I denna pilotstudie har det nyligen lanserade kassettbaserade multiplexsystemet QIAstat-Dx (QIAGEN, Hilden, Tyskland) jämförts med det lokalt nästan färdigverifierade systemet Biofire® FilmArray® (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Frankrike).

Material och metod: Kliniska prov från nasofarynx (n=22) respektive feces (n=24) som blivit positiva för ett eller flera agens i FilmArray® Respiratory Panel 1 respektive Gastrointestinal Panel analyserades samma eller nästföljande dag i motsvarande multiplexpaneler på QIAstat-Dx. Diskrepanta resultat verifierades med alternativ metod, förutsatt att sådan fanns tillgänglig i laboratoriets ordinarie analysortiment.

Resultat: Av de 22 luftvägsprov som var positiva i FilmArray® Respiratory Panel var 19 positiva för ett agens medan 3 var positiva för två agens. QIAstat-Dx identifierade samtliga förutom 4. I två fall berodde det på ”test fail”, dvs att inget resultat erhöles. I ett prov påvisades parainfluenza 2 i FilmArray® medan QIAstat-Dx påvisade rhino-/enterovirus. I ett annat påvisades och verifierades *Chlamydia pneumoniae* i FilmArray® medan det i QIAstat-Dx var negativt beroende på att analysen ej var tillgänglig i den kitversion som användes. De 24 fecesproven var positiva för 30 agens i FilmArray® gastroenteritpanel (med 6 prov, positiva för två agens) medan QIAstat-Dx var positiv för 24 agens (varav 4 prov, positiva för två agens). Antalet diskrepanser för gastroenteritpanelerna var 6. I fem fall påvisades agens i FilmArray som inte detekterades i QIAstat-Dx (1 Sapovirus (verifierat positiv), 2 EPEC och 1 EAEC (ingen verifiering utförd) samt ett prov med *Vibrio* och *Campylobacter* (som ej kunde verifieras med ordinarie diagnostik). Det återstående provet var positivt för Sapovirus i FilmArray® och för *Yersinia enterocolitica* i QIAstat-Dx. Inget av dessa agens kunde verifieras, men däremot påvisades Adenovirus vid verifieringen.

Konklusion: QIAstat-Dx är ett användarvänligt system som erbjuder luftvägs- och gastroenteritpaneler som rent agensmässigt motsvarar Biofire® FilmArray®. För luftvägspanelerna var resultaten i denna pilotstudie i princip likvärdiga medan det i gastroenteritpanelerna fanns fler diskrepanser, något som kanske inte enbart behöver bero på skillnader i sensitivitet eller specificitet utan kanske även på provmaterialets beskaffenhet. Mer ingående jämförelser behövs för att ta reda på vari skillnaderna ligger.

Korrespondens: hakan.janson@kronoberg.se

[Tillbaka till indextabel](#)

(MI-03) Ett mikrofluidiskt test med hög kapacitet för snabb antibiotikakänslighetsbestämning

Christer Malmberg (1,3), Pikkei Wistrand-Yuen (2,3), Moritz Lübke (3), Nikos Fatsis-Kavalopoulos (1), Thomas Tängdén (2), Johan Kreuger (1).

(1) Institutionen för Medicinsk Cellbiologi, Uppsala Universitet, Uppsala (2) Institutionen för Medicinska Vetenskaper, Uppsala Universitet, Uppsala (3) Gradientech AB, Uppsala

Bakgrund: Existerande antibiotikakänslighetstest så som buljongspädning och lappdiffusion är pålitliga men ofta för långsamma vid allvarliga infektioner som sepsis. En ökande prevalens av antibiotikaresistens i samhället leder till ett större behov av snabba diagnostikmetoder för att undvika behandlingssvikt vid empirisk antibiotikabehandling. Vi har tidigare beskrivit ett nytt system för snabb, fenotypisk antibiotikakänslighetsbestämning direkt från positiv blodkultur baserat på ett mikrofluidiskt chip med realtidsmätning av MIC-värdet inom 2-4 timmar. Målet med denna studie var att designa och utvärdera en högkapacitetsversion av detta chip baserat på 3D-skriven mikrofluidik, med förmåga att mäta 8 prover samtidigt.

Material och metoder: Totalt 21 kliniska isolat av *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* och *Staphylococcus aureus* erhöles från EUCAST Development Laboratory (EDL) i Växjö. Isolaten testades 4 ggr vardera mot en Gram-positiv eller en Gram-negativ antibiotikapanel med 3 antibiotika per typ (G-: amikacin, ceftazidim, meropenem; G+: gentamicin, ofloxacin, tetracyklin). Automatisk mätning av tillväxt för celler och mikrokolonier utfördes på bilder från ett automatiserat mörkfältsmikroskop (1.8x förstoring). Cellidentifikation och MIC-utläsning genomfördes sedan med en klusteranalysalgoritm, och MIC-värden jämfördes med resultat från buljongspädning utförd av EDL.

Resultat: Svarstiden för metoden var i genomsnitt 155 min (SD: 43 min) för Gram-negativa isolat (n=132) och 215 min (SD: 32 min) för Gram-positiva isolat (n=120); jämfört med 15-18 timmar för buljongspädning. För Gram-negativa isolat var överensstämmelsen med korrekt brytpunktskategori 100%, 82% och 73% för amikacin, ceftazidim och meropenem; och för Gram-positiva isolat 80%, 100% och 80% för gentamicin, ofloxacin och tetracyklin, respektive. MIC-resultaten var inom 1 log₂ spädningsskillnad gentemot referens 85% och 67% av fallen (G- och G+, respektive).

Slutsatser: Svarstiderna för alla isolat var i genomsnitt mellan 2-4 timmar, samtidigt som den kategoriska överensstämmelsen med buljongspädning var god, med undantag för meropenem. Resultaten för meropenem berodde på resistent fenotyp med sent uttryck, och kunde först detekteras efter 6 timmars tillväxt, efter det att testet avslutats. Sammanfattningsvis har den beskrivna metoden potential att tillhandahålla mycket snabba antibiotikakänslighetsresultat, vilket är av stor vikt för korrekt behandling av bakteriella infektioner.

Korrespondens: christer.malmberg@mcb.uu.se

[Tillbaka till indextabell](#)

(MI-04) Phenotypic detection of colistin resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* requiring only 30 minutes of antibiotic exposure

Oskar Ekelund (1), Erik Sturegård (2), Thomas Schön (3), Timothy John Jay Inglis (4), Sofia Somajo (1).

(1) *Klinisk mikrobiologi, Region Kronoberg, Växjö/Karlskrona*, (2) *Institutionen för Translationell Medicin, Lunds Universitet*, (3) *Klinisk mikrobiologi, Länssjukhuset i Kalmar, Linköpings Universitet*, (4) *Department of Microbiology, PathWest Laboratory Medicine, WA, Nedlands, Australien*

Background: Due to the emerging development of multi-drug resistance in Gram-negative bacteria, colistin has gained importance as a last resort antibiotic. Antimicrobial susceptibility testing (AST) for colistin is cumbersome, and only broth microdilution (BMD) is considered reliable for identification of low-level colistin resistance. Since BMD requires 16-20 h incubation, the need for faster methods is urgent. We developed and validated a flow cytometry-based method for colistin AST (FAST) requiring only 30 minutes of antibiotic exposure.

Materials/methods: To challenge the FAST method, a collection consisting of 28 *Escherichia coli* and 28 *Klebsiella pneumoniae* was assembled, including 35 susceptible, 15 low-level resistant (minimum inhibitory concentration (MIC) 4-8mg/L) and 6 high-level resistant (MIC >8mg/mL) isolates as determined with BMD. Following a pre-incubation step (90 min, 35°C), the strains were incubated in Mueller-Hinton broth (0.5-1x10⁶ cfu/mL) in pre-coated microwell plates containing freeze-dried colistin (0.06-64 mg/L). After 30 min (35°C) a fluorescent dye staining membrane-compromised cells was added to the wells, followed by flow cytometry data acquisition and analysis including MICFAST estimation. The MICFAST was defined as the lowest colistin concentration resulting in at least 50% fluorophore positive bacteria. Conventional BMD was performed in parallel for direct comparison.

Results: Using FAST, all 21 resistant *E. coli* and *K. pneumoniae* isolates were identified, resulting in analytical sensitivity of 100% and categorical agreement of 95% based on EUCAST breakpoints ($S \leq 2$). More than 80% of the FAST-derived MICs were within ± 2 dilution steps from the corresponding BMD-MIC. Three *K. pneumoniae* isolates with MIC_{BMD} 1 mg/mL clearly differed from the observed FAST-derived wild type distribution, although being classified as fully susceptible by BMD.

Conclusions: Using a fluorescent probe for detection of compromised membrane integrity, flow cytometry is a promising tool for rapid detection of colistin resistance in *E. coli* and *K. pneumoniae*, with the possibility of achieving MICs with only thirty minutes colistin exposure. The three categorically discrepant isolates will be further examined for potential mechanisms of resistance to colistin.

Korrespondens: sofia.somajo@kronoberg.se

[Tillbaka till indextabell](#)

(MI-05) Multi-laboratory evaluation in southern Europe of the EUCAST method for rapid antimicrobial susceptibility testing directly from positive blood cultures.

Anna Åkerlund (1,2), Emma Jonasson (3) Erika Matuschek (4) Gunnar Kahlmeter (3,4).

1. *Klinisk Mikrobiologi, Länssjukhuset Ryhov, Jönköping.* 2. *Institutionen för klinisk och experimentell medicin, Linköping University.* 3. *Klinisk mikrobiologi, Centrallasarettet, Växjö.* 4. *EUCAST Utvecklings Laboratorium, Växjö.*

Background: Time to susceptibility test results can be shortened for phenotypic methods. EUCAST has developed a standardised rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) method directly from positive blood cultures (BC) (Poster 165, ECCMID 2017) that has been evaluated at 40 clinical laboratories in Nordic countries (Poster O0747, ECCMID 2018). The purpose of this study was to evaluate the RAST method in laboratories in southern Europe with presumably higher resistance levels.

Material/methods: During two months, the participating laboratories (n=15) performed the EUCAST RAST method, with readings after 4, 6 and 8h, on consecutive positive clinical BCs. Antimicrobial agents commonly used in the treatment of blood stream infections were tested. Locally used manufacturers of antimicrobial disks (n=6), Mueller-Hinton media (n=6) and BC systems (n=2) were used in the study. All isolates were sent to the EUCAST development laboratory where disk diffusion according to EUCAST standard methodology was performed. Categorical agreement vs. EUCAST standard disk diffusion were calculated for *Escherichia coli* (n=150), *Klebsiella pneumoniae* (n=66), *Pseudomonas aeruginosa* (n=32) and *Staphylococcus aureus* (n=70) using two sets of RAST breakpoints: the preliminary breakpoints used to conduct the two multi-laboratory studies and the EUCAST final RAST breakpoints based on the aggregated material from all studies performed, accepted by EUCAST November 2018. The proportion of inhibition zones which could be read at the respective times was also calculated.

Results: Almost all zone diameters could be read already after 6h and for *E. coli* and *K. pneumoniae* already after 4h. The number of categorical errors was low with both preliminary and final RAST breakpoints. The proportion of results in the Area of technical uncertainty (ATU) was highest at 4h. With the final breakpoints, fewer results were categorised as ATU, resulting in more agents with a final report.

Conclusion: This study shows that the EUCAST RAST method are appropriate also in a clinical setting with a high resistance levels (11- 43% depending on species). The results in this study were used together with all previous results to fine tune the preliminary EUCAST RAST breakpoints. The first version of the EUCAST RAST methodology and breakpoints are published on www.eucast.org.

Korrespondens: anna.akerlund@rjl.se

[Tillbaka till indextabell](#)

(MI-06) Helgenomsekvensering av *Clostridium difficile* ger mer detaljerad information än Ribotypning

Anders Werner (1), Anna Fagerström (2,4), Karin Johansson (2), Theresa Ennefors (2), Kristina Rizzardi (4), Thomas Åkerlund (4), Torbjörn Norén (2,3), Paula Mölling (2,3), Martin Sundqvist* (2,3),

1. Klinisk Mikrobiologi, Sahlgrenska universitetssjukhuset, Göteborg 2. Nationella referenslaboratoriet för *Clostridium difficile*, Laboratoriemedicinska kliniken, Klinisk Mikrobiologi, Universitetssjukhuset, Örebro 3. Institutionen för Medicinska Vetenskaper, Örebro Universitet, Örebro 4. Nationella referenslaboratoriet för *Clostridium difficile*, Folkhälsomyndigheten, Solna

Bakgrund *Clostridium difficile* (CD) orsakar antibiotikaorsakad diarré och oönskad spridning förekommer i svensk sjukvård. Ribotypning (RT) är den vanligaste metoden för typning av CD både nationellt och internationellt. Metoden ger god möjlighet till longitudinell övervakning, men helgenomsekvensering (WGS) har visats ha en högre diskriminerande förmåga vid utbrottsypning. Syftet med det aktuella projektet var att studera mervärdet med WGS baserad typning inom tre utbrottsrelaterade RT i Sverige.

Metod Femtio kliniska isolat tillhörande RT 017 (n=21), 027 (n=20) och 046 (n=18) som skickats till det nationella referenslaboratoriet för *Clostridium difficile* analyserades med WGS vid Klinisk Mikrobiologi, Universitetssjukhuset, Örebro. Från icke selektiv agar användes 1/3 10 μ L loop och DNA extraherades med DNeasy UltraClean Microbial Kit (Qiagen) inklusive ett modifierat försteg (95°C 5 min, mekanisk lysning 20 min). Bibliotekspreparering utfördes med Nextera XT DNA Library kit och sekvensering utfördes på MiSeq med MiSeq Reagent Kit v3, 600 cycles (Illumina). Sekvenserna analyserades med Ridom SeqSphere+, baserat på core genome (cg) MLST, samt med 1928D och CSI Phylogeny 1.4 för SNP analys.

Resultat De olika ribotyperna separerades väl och analys med cgMLST gav en betydligt högre upplösning än RT. De känt utbrottsrelaterade bakterieisolaten, ett kluster inom varje RT, tillhörde tre separata cgMLST typer (≤ 4 allel-skillnader inom respektive utbrott). Inom 017 och 046 fanns ytterligare några stammar med ≤ 4 allel-skillnader från utbrottsisolaten som isolerats på andra sjukhus. Dessa skulle således kunna anses kopplade till de kända utbrotten, men epidemiologiska data saknades för att kunna säkerställa detta. Det förekom i tillägg isolat med enbart enstaka allel-skillnader som isolerats vid olika laboratorier och/eller med flera års mellanrum. Preliminärt gav SNP baserad analys inte en högre upplösning än cgMLST.

Diskussion Helgenomsekvensering med efterföljande cgMLST analys resulterade i en mycket högre upplösning än Ribotypning och var en tydlig hjälp i att identifiera utbrottsrelaterade isolat. Metoden kommer därför att börja användas för utbrottsrelaterad typning vid referenslaboratoriet. Dock noterades även mycket hög genetisk likhet mellan isolat som inte var känt epidemiologiskt kopplade till varandra. Detta förklaras sannolikt av den låga mutationshastigheten hos CD och bakteriens förmåga att konservera sitt genom i samband med sporulering.

Korrespondens: martin.sundqvist@regionorebrolan.se

[Tillbaka till indextabell](#)

(MI-07) Infektiös endokardit orsakat av *Streptococcus dysgalactiae*; ett akut och aggressivt tillstånd

Anna Bläckberg (1), Bo Nilson (2,3) & Volkan Özenci (4,5) & Lars Olaison (6,7) & Magnus Rasmussen (1).

1 Lund University, Department of Clinical Sciences, Lund, Division of Infection Medicine, BMC B14 Baravägen 27, 223 63, Lund, Sweden 2 Clinical Microbiology, Labmedicin, Region Skåne, Lund, Sweden 3 Lund University, Department of Laboratory Medicine Lund, Section of Medical Microbiology, Lund, Sweden 4 Karolinska University Hospital, Department of Clinical Microbiology, Huddinge, Stockholm, Sweden 5 Karolinska Institutet, Division of Clinical Microbiology, Department of Laboratory Medicine, Stockholm, Sweden 6 University of Gothenburg, Department of Infectious Diseases, Sahlgrenska University Hospital, Institute of Biomedicine, Gothenburg, Sweden 7 Swedish Society of Infectious Diseases, Swedish Registry of Infective Endocarditis, Sweden

Bakgrund: Humanpatogena beta-hemolytiska streptokocker (BHS) av grupp C och G streptokocker tillhör oftast *Streptococcus dysgalactiae* (SD). Under de senaste åren har MALDI-TOF MS utvecklats och förbättrat artbestämningen av BHS. Bakterien kan orsaka halsfluss, hud- och mjukdelsinfektioner men även endokardit med allvarliga komplikationer. Svenska riktlinjer rekommenderar monoterapi med penicillin vid SD-orsakad endokardit medan internationella riktlinjer förordar tillägg med aminoglykosider trots biverkningsrisk och bristande evidens.

Syfte: Att identifiera kliniska och mikrobiologiska karakteristiska av SD-orsakad endokardit samt utreda möjlig synergi mellan penicillin och aminoglykosider på blodisolat från patienter med SD-orsakad endokardit.

Metod: Fall av SD-orsakad endokardit identifierades från svenska endokarditregistret och jämfördes med fall av endokardit orsakat av andra patogener. Blodisolat *emm* typades och antibiotikas Synergi bestämdes med Etest och avdödningsmetoder.

Resultat: Femtio fall av SD-orsakad endokardit identifierades. Patienterna var signifikant äldre (median 74 år) och hade ett snabbt insjuknande (en dag), jämfört med patienter med endokardit orsakat av andra patogener (65 år) samt (2-15 dagar). Sjukhusmortaliteten var 8% och embolisering förelåg i 48% av fallen. Synergi mellan penicillin och aminoglykosider kunde inte påvisas med Etest-baserade metoder men i avdöningsexperiment konstaterades synergi i fyra av nio fall efter sex eller 24 timmar. I majoriteten av fallen var den baktericida effekten av penicillin efter 24 h så starkt att tillägg med aminoglykosider inte gav någon detekterbar synergi.

Konklusion: Detta är den största studien om SD-orsakad endokardit, ett tillstånd som framförallt drabbar äldre med snabbt insjuknande. Synergi mellan penicillin och gentamicin kunde påvisas in vitro men det är osäkert om den eventuella vinsten av tilläggsbehandling med aminoglykosider uppväger biverkningsrisken.

Korrespondens: anna.blackberg@med.lu.se

[Tillbaka till indextabell](#)

(MI-08) EV-D68: en studie av intra- och interpatient-evolution med djup helgenomsekvensering

Robert Dyrdak (1,2), Monika Mastafa (1,2), Emma Hodcroft (3), Lina Thebo (2), Richard Neher (3), Jan Albert (1,2).

(1) Klinisk mikrobiologi, Karolinska Universitetssjukhuset, Stockholm (2) Institutionen för Mikrobiologi, Tumör- och Cellbiologi, Karolinska Institutet, Stockholm (3) University of Basel, Biozentrum, Basel, Schweiz

Bakgrund: Enterovirus D68 (EV-D68) har fått klinisk relevans pga. globala utbrott med luftvägsinfektioner och neurologiska manifestationer 2014 och 2016. Dessa år påvisade vi EV-D68 även i Stockholm med en validerat en EV-D68-specifik realtids-PCR. Syftet med detta projekt är att studera intra- och interpatient evolution av EV-D68 med djup helgenomsekvensering.

Material och metoder: Vi har analyserat kliniska prover från Stockholm från 2014 (n=6), 2016 (n=54) och 2018 (n=6), samt prover från säsongen 2018 från Nederländerna (n=10), Belgien (n=10), Schweiz (n=6) och Spanien (n=14). EV-D68 genom PCR amplifierades i fyra överlappande fragment med egendesignade primers och sekvenserades på Illumina-plattformen på SciLifeLab. Sekvensdata bearbetades i en ”in-house” bioinformatisk pipeline kopplad till den öppna plattformen nextstrain.org. Data kompletterades med publikt tillgängliga helgenom.

Resultat: Sekvensdata har hittills erhållits för 61 prov från Sverige och samtliga prov från Nederländerna och Belgien. Analyser av proverna från övriga länder pågår. Fylogenetisk analys visar att EV-D68 under utbrottet 2016 introducerades till Stockholm flera gånger och sedan spreds lokalt. Den dominerande varianten 2016 stammade inte direkt från den dominerande varianten 2014, istället uppskattades den gemensamma nämnaren (most recent common ancestor, MRCA) för dessa varianter ha existerat 2009. Säsongen 2018 hade begränsad cirkulation i Sverige, men högre aktivitet i andra delar av världen. Till skillnad från säsongerna 2014 och 2016 finns ingen enskild dominerande variant. Minoritetsvarianter (iSNVs) ner till 1% kunde detekteras. Analys av iSNVs visar på låg variabilitet med huvudsakligen synonyma mutationer. I de förmodade neutraliserande epitoperna i VP1-proteinet sågs något högre variabilitet än i andra delar av genomet. Hos tre patienter sågs co-infektion med två olika EV-D68.

Diskussion: Detta är den första studien av EV-D68 evolution med djup helgenomsekvensering. Sekvensdata publiceras fortlöpande i ett interaktivt gränssnitt på den öppna plattformen nextstrain.org vilket möjliggör en kontinuerlig analys och övervakning av evolutionen och spridningen globalt.

Korrespondens: robert.dyrdak@ki.se

[Tillbaka till indextabell](#)

(MI-09) Strain-specific degradation of meropenem in broth microdilution: a factor possibly influencing generated MICs

Oskar Ekelund (1), Erik Sturegård (2), Thomas Schön (3), Anton Pohanka (4), Sofia Somajo (1).
(1) Klinisk mikrobiologi, Region Kronoberg, Växjö/Karlskrona, (2) Institutionen för Translationell Medicin, Lunds Universitet, (3) Klinisk mikrobiologi, Länssjukhuset i Kalmar, Linköpings Universitet, (4) Klinisk farmakologi, Karolinska Universitetssjukhuset, Stockholm

Background: Broth microdilution (BMD) is widely accepted as the gold standard for antimicrobial susceptibility testing (AST). However, the generated MICs are heavily dependent on assay-related factors decided by convention, such as incubation time and temperature. Similarly, intrinsic properties of individual antibiotics such as spontaneous degradation in broth may influence. Nevertheless, MICs are frequently correlated to achievable in vivo concentrations of antibiotics and used for PK/PD modelling. BMD is considered independent of the mechanisms of resistance. However, during development of new rapid phenotypic AST methods, we have occasionally found discrepant MIC results, seemingly related to the mechanism of resistance. We therefore investigated the BMD in-well dynamics of meropenem, using different strains of *Klebsiella pneumoniae*.

Materials/methods: To investigate the role of different resistance mechanisms on the in-well dynamics of meropenem in BMD, five *K. pneumoniae* strains were incubated in Mueller-Hinton broth containing 4, 16 or 64 mg/L meropenem. Samples were removed at 0.5, 4, 8 and 20 h, followed by centrifugation to achieve a cell free liquid. Meropenem concentrations were quantified with a bioanalytical method based on liquid chromatography coupled to mass spectrometry (LC-MS/MS), validated for MH broth as matrix.

Results: In the presence of carbapenemase producing (CPE) strains there was a marked decrease of meropenem concentration over time. At 4 h the initial 16 mg/L was reduced by 91 %, resulting in less than 10% residual meropenem for the remaining BMD time. The spontaneous degradation of meropenem in sterile control wells was indistinguishable from those incubated with meropenem susceptible or meropenem resistant non-CPE strains at all tested time points and concentrations.

Conclusions: The mechanism of resistance dramatically impacts the in-well meropenem dynamics in BMD. Despite baseline concentration of 16 mg/L, CPEs are virtually unexposed to meropenem the last 8-12 h with a subsequent risk of regrowth after initial inhibition. Hence, it is possible that a high meropenem MIC could be due either to absence of inhibition at lower concentrations or to inhibition followed by re-growth after meropenem depletion, depending of mechanism of resistance. This finding may have important implications for the definition of antibiotic susceptibility and should be investigated thoroughly.

Korrespondens: oskar.ekelund@kronoberg.se

[Tillbaka till indextabell](#)

(MI-10) Nationell spridning av vankomycinresistenta *Enterococcus faecium* 2017-2018

Petra Edquist (1), Hanna Billström (1), Olov Svartström (1), Sara Byfors (1).
(1) Avdelningen för Mikrobiologi, Folkhälsomyndigheten

Infektioner med multiresistenta bakterier är ett växande problem inom sjukvården, där bland annat vankomycinresistenta enterokocker (VRE) ökar i förekomst och spridning. En infektion med VRE är allvarlig eftersom vankomycin är det antibiotika som vanligtvis används för behandling av svåra infektioner och resistensen begränsar behandlingsalternativen. Det är patienter som redan är svårt sjuka som löper störst risk för VRE-infektion eftersom VRE lätt sprids i vårdmiljö och särskilt vid avancerad sjukvård. Totalt rapporterades 444 VRE fall 2018. I december 2017 startade ett utbrott med *E. faecium* med vanB i Stockholm där en ansamling av fall upptäcktes och spridningen verifierades med helgenomsekvensering (WGS) inom Folkhälsomyndighetens nationella mikrobiella övervakningsprogram för VRE (Nationellt mikrobiellt övervakningsprogram) som omfattar WGS av alla isolat. Via patientförflyttningar spred sig utbrottet snabbt över landet framförallt till region Sörmland, Västerbotten och Örebro, spridningen kunde följas och bekräftas med hjälp av den epidemiologiska typningen. Totalt inkluderades 271 patienter i utbrottet. För utbrottsstammen sågs vankomycinresistens med MIC-värden mellan 8-32 mg/L, ingen linezolidresistens påvisades. Folkhälsomyndigheten har helgenomsekvenserat totalt 272 isolat (flera isolat från samma patient i ett fall), stammen tillhör den relativt vanliga sekvenstypen ST-80 och har fått beteckningen SE-EfmB-1707. En djupare analys, en så kallad single-nucleotide polymorphism (SNP) analys genomfördes också. SNP-analysen visar på ett nära släktskap mellan alla isolat inom utbrottet, vilket styrks av den snabba spridningen och de epidemiologiska kopplingarna mellan fallen. Totalt analyserades 98 isolat från Region Stockholm, 41 isolat från Region Sörmland, 95 isolat från Region Västerbotten och 34 isolat från Region Örebro. Mindre spridningar med upp till två fall sågs också i andra regioner. En spridning likt denna visar på vikten av en samlad epidemiologisk typning med nationell överblick och på styrkan med WGS som metodik för att upptäcka och bekräfta misstänkta utbrott samt att följa spridningar.

Korrespondens: petra.edquist@folkhalsomyndigheten.se

[Tillbaka till indextabel](#)

(MI-P201) Whole-genome sequencing to elucidate a potential MRSA outbreak

Sara Mernelius (1), Malin Bengnér (2) Sofia Wetterbrandt (2) Amelie Magnander (2) .
(1) Laboratoriemedicin, Region Jönköpings län (2) Smittskydd och Vårdhygien, Region Jönköpings län

Background: Over a five months' period colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) was detected in five children cared for in the same neonatology ward. All MRSA isolates were of the same *spa* type (t304), indicating potential nosocomial transmission. Two of the neonates were twins, but none of the other neonates were admitted to the ward during the same time. To clarify if there was an ongoing transmission of MRSA in the ward we performed whole-genome sequencing (WGS).

Materials/methods: DNA was extracted using the DNA Tissue Kit (Qiagen, Hilden, Germany) and library preparation was performed using Nextera XT (Illumina, San Diego, CA). Paired-end sequencing was performed using MiSeq Reagent Kit v3 on a MiSeq instrument (Illumina). SeqSphere+ (Ridom GmbH, Münster, Germany) was used for data analysis.

Results: Core genome (cg) MLST analysis in SeqSphere+, based on 1845 genes, showed that the two MRSA isolates from the twins were of the same cluster type (7921). The other three isolates were each assigned different cluster types (7922, 7923 and 7924) and differed in 83 to 223 genes from the twins' isolates. cgMLST showed that the MRSA colonizing the twins were of the same cluster type, and that this type differed from the cluster types of the MRSA isolated from the other three neonates. cgMLST showed that the four cluster types identified were distantly related to one another.

Conclusions: WGS data showed that transmission occurred between the twins, which is almost inevitable, as they share the same incubator, are cared for by the same parents and are almost always physically very close to one another. Beside the transmission between the twins, WGS data show no evidence of further transmission between the colonized neonates. WGS and cgMLST helped elucidate this potential outbreak of MRSA, where *spa* typing indicated potential transmission but epidemiological data did not. The use of *spa* typing alone would in this case have misled us to believe that we had an ongoing MRSA outbreak. It is however important to emphasize that typing data should always be interpreted in the light of epidemiological data, no matter what method you use.

Korrespondens: sara.mernelius@rjl.se

[Tillbaka till indextabell](#)

(MI-P202) Clonal endemic outbreak of tobramycin-resistant *Staphylococcus aureus* in a Swedish neonatal intensive care unit

Anna Jogenfors (1)*, Sara Mernelius (1), Jan Söderman (1), Malin Bengnér (2), Fredrik Ingemansson (3), Sofia Wetterbrandt (2), Andreas Matussek (1,4,5).

1 Department of Laboratory Medicine, Region Jönköping County, Sweden 2 Office for Control Department of Communicable Diseases Control, Region Jönköping County, Sweden 3 Department of Pediatrics, County Hospital Ryhov, Jönköping, Sweden. 4 Division of Clinical Microbiology, Department of Laboratory Medicine, Karolinska Institutet, Karolinska University Hospital, Huddinge, Sweden 5 Karolinska University Laboratory, Stockholm, Sweden

Keywords: Epidemiology, *Staphylococcus aureus*, antibiotic resistance, intensive care units, NICU

Background: In 2010, an outbreak of tobramycin resistant *Staphylococcus aureus* (TRSA) of *spa* type t084 was detected in the neonatal intensive care unit (NICU) at the County hospital Ryhov in Jönköping, Sweden. This *spa* type was prevalent in previous studies, including infants, bacteremic patients and nursing home residents from the same area. However, no TRSA were found in these studies. To target multidrug resistance strains, rotating antibiotic regimens is one option.

Methods: In figure 1 the design of the multimodal interventions is shown, including a screening program initiated in 2012. In 2015, weekly swab samples (anterior nares, umbilical, perineum and from any catheters or wounds) were obtained from hospitalized infants. A switch from tobramycin to amikacin in combination with penicillin as empiric antibiotic treatment was done on the 12th of May 2014 in Jönköping.

Results: In 2010, screening uncovered the extent of the TRSA t084 outbreak (Table 1). The TRSA strains were all sensitive to amikacin, gentamicin and netilmicin. After the antibiotic substitution, the TRSA prevalence was reduced 39% to 17 % ($p=0.00002$). Screening results from 2012-05-11 through 2017-05-12 are divided into periods 1 and 2, with a 3-month gap resulting from the amikacin introduction (Table 2).

Conclusion: The objective of this study was to describe the stepwise multimodal interventions in order to eliminate the outbreak of TRSA of *spa* type t084. After several different interventions the strain is still present in the NICU, but to a lesser extent than before. *S. aureus* of this *spa* type is common; however no TRSA has been repeatedly isolated in previous studies from the region which indicates a transmission tendency. Whole genome sequencing might reveal the genomic bases for transmission and resistance of t084.

Korrespondens: anna.jogenfors@rjl.se

Inskickat till Mikrobiologiskt vårmöte 2019-02-18, 14:06 via formulär på mikrobiologi.net.

[Tillbaka till indextabell](#)

(MI-P203) Helgenomsekvensering (WGS) - erfarenheter efter ett år i klinisk rutin

Jenny Welander (1), Marjan Nosouhi (1), Bitta Bakhshi (1), Maria Gideskog (2), Anders Johansson (1).

(1) Klinisk mikrobiologi, Universitetssjukhuset i Linköping, Region Östergötland (2) Smittskydd och vårdhygien, Region Östergötland

Helgenomsekvensering (WGS) av bakterier möjliggör kartläggning av resistensmekanismer samt epidemiologisk typning och blir därmed ett värdefullt verktyg vid utbrottsutredning och smittspårning, exempelvis vid utbrott av MRSA, VRE eller ESBL-producerande bakterier. Vid Klinisk mikrobiologi i Linköping har en WGS-metod satts upp validerats för artbestämning, detektion av resistensgener, epidemiologisk typning med MLST, *spa*-typning och detektion av PVL-gen för *Staphylococcus aureus* samt utbrottsutredning med SNP-analys och fylogenetiska träd. Sedan metoden togs i drift i december 2017 har mer än 500 kliniska prover analyserats. De vanligaste frågeställningarna rör spa-typning och förekomst av ESBL- och karbapenemasgener, men ett flertal utredningar har också gjorts på frågeställningar kring utbrott och smittspridning i regionen.

Korrespondens: jenny.welander@regionostergotland.se

[Tillbaka till indextabell](#)

(MI-P204) Evaluation of the eazyplex® MRSAplus assay for rapid identification of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and detection of the virulence factor Panton-Valentine leukocidin (PVL) in clinical isolates

Hilde Riedel(1, 2), Anna Hill(1), Anna-Karin Smekal(1).

(1) Uppsala University Hospital, Department of Clinical Microbiology, Uppsala, Sweden. (2) Uppsala University, Department of Medical Sciences, Section of Clinical Bacteriology, Uppsala, Sweden.

Introduction: The spread of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is a major and growing problem in healthcare settings. Rapid diagnostic methods are of great importance in the fight against nosocomial transmission between patients and to optimize treatment for individual patients with invasive MRSA infections. The aim of this study was to test a fast detection assay, eazyplex® MRSAplus, for identification of the species *S. aureus*, the resistance genes *mecA* and *mecC*, and the *lukS-lukF* gene (PVL) in clinical isolates.

Methods: The eazyplex® MRSAplus assay (Amplex Diagnostics) is a rapid confirmatory test for the specific detection of MRSA and PVL from bacterial colonies, based on loop-mediated isothermal amplification (LAMP) and real-time detection of the corresponding genes or species (the species *Staphylococcus aureus*, the resistance genes *mecA* and *mecC*, the *lukS-lukF* gene). A collection of 73 *Staphylococcus* isolates previously confirmed by molecular methods (in-house PCR targeting *nuc*, *Sa442* and *mecA* genes) were used in the evaluation. The assay was performed according to the manufacturer's instructions on Genie II (Amplex Diagnostics).

Results: The assay identified all target genes correctly. Thus, a sensitivity of 100% for the target genes *mecA*, *mecC* and *lukS-lukF* (PVL) were obtained. No false positive results were observed resulting in a specificity of 100% for *mecA*, *mecC* and *lukS-lukF* (PVL). **Conclusions:** The eazyplex® MRSAplus assay (Amplex Diagnostics) obtained 100% sensitivity and specificity for the target genes *mecA*, *mecC* and *lukS-lukF* (PVL) for the *Staphylococcus* isolates. In conclusion, the eazyplex® LAMP test was a rapid (only 20-30 minutes) and reliable method that demonstrated high sensitivity and specificity for the identification of species, resistance and toxin genes in clinical isolates.

Korrespondens: hilde.riedel@akademiska.se

[Tillbaka till indextabell](#)

(MI-P205) Helgenomsekvensering "One analysis fits all" – Ett år med rutinmässig epidemiologisk typning öppnade upp för andra användbara applikationer inom MRB-diagnostiken

Patrik Jonsson (1), Karolina Ininbergs (1), Isak Sylvin (2), Christian G. Giske (1,3) och Aina Iversen (1).

(1) Klinisk mikrobiologi, Karolinska Universitetssjukhuset, Solna (2) Clinical Genomics, SciLifeLab (3) Institutionen för Laboratoriemedicin, Karolinska Institutet

I början av 2018 infördes ett NGS-baserat flöde för epidemiologisk typning av MRSA, VRE och ESBL på Karolinska Universitetssjukhuset, i samarbete med SciLifeLab, med rutinmässig rapportering av MLST (multilocus sequence typing) typ till Smittskydd Stockholm och Vårdhygien. Sedan införandet har 326 isolat av Gramnegativa bakterier analyserats med helgenomsekvensering på Solnasidan, de flesta inom ramen för rutinmässigt utförda epidemiologiska typningar av ESBL-CARBA och ESBL-producerande *Escherichia coli* (N=215) och *Klebsiella pneumoniae* (N=57). I de flesta fall kunde misstanken om smittspridning avslås redan vid rapporteringen av olika sekvenstyper (ST) och resistensgener som hämtats från de automatiskt genererade microSALT-rapporterna (<https://github.com/Clinical-Genomics/microSALT>). Vid sex tillfällen fanns behov av fördjupad analys för att utreda släktskap mellan isolat med samma ST som ingick i misstänkta utbrott. För det ändamålet användes single nucleotide polymorphism (SNP) analys, som utfördes i Microbial Genomics modulen i CLC Genomics Workbench. Helgenomsekvenseringen har även visat sig vara en universallösning vid ovanliga frågeställningar, samt vid kvalitetssäkring och uppföljning av ESBL- och ESBL-CARBA-diagnostiken. Analysen har använts t.ex vid utredning av karbapenemresistenta, fenotypiskt karbapenemaspositiva *Enterobacterales* som varit negativa för de vanligaste ESBL-CARBA-generna, vid epidemiologisk typning av arter som inte var uppsatta i rutinflödet (*Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia* och *Enterobacter cloacae*), samt vid konfirmering av en ovanlig art tillhörande *Enterobacterales*, nämligen *Leclercia adecarboxylata*. Det första året med tillgång till helgenomsekvensering inom MRB-diagnostiken har med råge levt upp till förväntningarna. Samma analys kan besvara många olika frågeställningar bara data kan analyseras. När ovanliga frågeställningar behöver besvaras har tillgången till en bioinformatiker varit avgörande för att automatisera och underlätta analysen av data. Möjligheterna som det här innebär på ett kliniskt mikrobiologiskt laboratorium har precis bara börjat utforskas.

Korrespondens: aina.iversen@sll.se

[Tillbaka till indextabell](#)

(MI-P206) Comparative evaluation of five serological tests for the diagnosis of leishmaniasis in a non-endemic setting

Leigh Davidsson (1), Georgina Isak(1), Sara Karlsson Söbirk(2).

(1)Enheten för parasitologi, Folkhälsomyndigheten (2)Infektionsenheten, Lunds Universitet och Region Skåne

Few studies have been published comparing test performance for serodiagnosis of imported visceral leishmaniasis (VL) and mucocutaneous leishmaniasis (MCL) in a non-endemic setting, where patients acquire infections due to various *Leishmania spp* from different geographic regions. Our study aimed to find two serological tests which, used in combination, had the highest sensitivity and specificity to detect anti-*Leishmania* antibodies in patients with VL or MCL. We retrospectively tested 113 serum samples from 98 patients and controls with five methods: Immunofluorescence antibody test (IFAT), Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), Western Blot (WB), Direct agglutination test (DAT) and an Immunochromatographic Rapid diagnostic test (rK39-RDT). VL or MCL diagnosis according to WHO recommended classification criteria was used as gold standard. Differences between test results were calculated using McNemar's test. No combination of two tests had a higher diagnostic accuracy for VL than rK39 RDT or DAT used as single tests. Diagnostic accuracies of the five assays to detect VL in our selection of samples ranged from 70% to 93%. Sensitivities ranged from 82% to 93%, but these differences were not statistically significant. Specificities ranged from 59% to 98%. Most false-positive reactions were observed in sera from *Trypanosoma spp*-infected patients. Three tests reliably detected anti-*Leishmania* antibodies in MCL-patients. Our results confirmed that negative serological results in immunosuppressed VL-patients cannot exclude disease. We emphasize the importance of parasitological confirmation from infected tissue whenever possible in the investigation of VL and MCL, as both are diseases in which a missed or erroneous diagnosis may have grave consequences.

Korrespondens: leigh.davidsson@folkhalsomyndigheten.se

[Tillbaka till indextabell](#)

(MI-P207) *Cyclospora cayetanensis* infections in Sweden – underdiagnosed or uncommon?

Therese Bergstrand (1), Jessica Beser (1).
(1) *Enheten för Parasitologi, Folkhälsomyndigheten*

In recent years an increase of infection with *Cyclospora cayetanensis* have been reported from several countries as well as outbreaks, often linked to imported fresh produce or traveling. Infection with *Cyclospora* is not notifiable in Sweden and thus there are no records of the number infected annually. One food-borne outbreak linked to imported sugar snap peas occurred in Sweden 2009, but since then there has been few reports of findings. The aim of this study was to investigate the number of *Cyclospora* infections diagnosed in Sweden in 2016 and 2017 as well as to get an overview of diagnostic methods used. In January 2018, all clinical parasitological laboratories in Sweden were invited to participate. Twenty laboratories responded and answered a questionnaire. Seventeen laboratories perform diagnostics for *Cyclospora* and the remaining three forward such samples to others. All 17 laboratories perform microscopy after concentration and modified Ziehl-Neelsen (mZN) staining of samples that has a specific request for *Cyclospora* diagnostics. One laboratory also has a multiplexed PCR where the parasite is included. Ten laboratories state they screen for *Cyclospora* in all samples with a general request for microscopy of parasites in wet smear. Six laboratories have different criteria for when they stain with mZN even without a specific request. Several laboratories bring up the problem of this infection being unusual and the difficulties to maintain competence when positive samples are rare even though all laboratories participate in external quality assessment programs. Rarely samples have a specific *Cyclospora* request and it is possible that positive samples are being missed when not performing mZN microscopy. Another issue of concern is the implementation of multiplexed PCR systems for parasites where *Cyclospora* is seldom included. PCR analyses also results in fewer samples being analyzed by microscopy. In 2017 seven cases of *Cyclospora* infection were identified by three laboratories and in 2016 ten cases were found by five laboratories. During the last ten years seven laboratories reported findings, approximately 40 to 75 cases in total. This imply that ten of the laboratories have not had a positive finding of the parasite in the last ten years. It is difficult to conclude if the parasite is uncommon or underdiagnosed in Sweden. To ensure the capability for detection and good patient diagnostics it is important to maintain or improve the competence at the laboratories by for example participating in control programs and be aware of the difficulties.

Korrespondens: therese.bergstrand@folkhalsomyndigheten.se

[Tillbaka till indestabell](#)

(MI-P208) Diagnostik av EHEC – screening, direkt frågeställning eller både och?

Åsa Valve (1), Marcus Johansson (1), Heléna Larsson (1), Annika Wistedt (1), Thomas Schön (1,2).
(1) Avdelningen för Klinisk Mikrobiologi, Länssjukhuset i Kalmar, Region Kalmar Län. (2) Avdelningen för Infektionsmedicin, Länssjukhuset i Kalmar, Region Kalmar Län.

Bakgrund: Diagnostik av enterohemorragiska *Escherichia coli* (EHEC) utförs vanligen genom detektion av de shigatoxinkodande generna *stx1* och *stx2*. EHEC kan ge upphov till blodiga diarréer och *stx2* är starkt kopplad till den allvarligaste manifestationen – hemorragiskt uremiskt syndrom (HUS). I Sverige har EHEC högst incidens hos barn under 4 år och omkring 500 EHEC-fall rapporteras årligen. I Region Kalmar län har EHEC-diagnostik utförts sedan 2004 både på direkt frågeställning och via screening på barn under 7 år eller där blodig diarré angetts, samt på samtliga prov med växt av sorbitolnegativa kolonier på Sorbitol-MacConkey agar (SMAC). Då det saknas systematiska utvärderingar av fördelningen mellan EHEC-positiva patienter detekterade via screening och på direkt frågeställning relaterat till den kliniska bilden i respektive grupp var syftet att utvärdera detta.

Material och metod: I en retrospektiv studie undersöktes EHEC-positiva patienter i region Kalmar län under 2014-2018. Faecesprover odlades först på SMAC, slammades efter inkubation och analyserades därefter med en realtids-PCR-baserad in-house-metod som detekterar *stx1* och *stx2*. Antal EHEC-positiva prov totalt togs fram via laboratoriedatabasen uppdelat på patienter identifierade via screening och där EHEC efterfrågats specifikt. Under en period (2017-2018) gjordes en genomgång och relevansbedömning av samtliga positiva EHEC-fall.

Resultat: Under perioden 2014-2018 inkom 4158 faecesprover/år (range: 4099-4305) och i genomsnitt diagnosticerades 27 EHEC-fall/år (20-38). Andelen EHEC-fall som upptäcktes via screening under perioden var 57 % (77/136). Vid genomgång av samtliga EHEC-positiva patienter under 2017-2018 (n = 54) hade fem HUS och två av dessa fall identifierades via screening innan HUS-diagnosen var ställd. Majoriteten av fallen (50/54; 93 %) bedömdes som kliniskt relevanta på basen av klinisk bild vid provtagning inklusive diarré med eller utan blodtillblandning.

Konklusion: I denna retrospektiva utvärdering av EHEC-diagnostik identifierades fler än hälften av EHEC-fallen med screening-rutinen, vilka hade missats med enbart riktad frågeställning. Majoriteten av fallen bedömdes kliniskt relevanta och två av fem HUS-fall återfanns bland de som analyserades som ett led i screening. Då EHEC kan leda till potentiellt allvarliga tillstånd tyder våra data på att riktad screening av riskgrupper kan vara av värde. Detta bör dock vägas mot de resurser som läggs ned och hur väl screeningen lyckas förändra den kliniska handläggningen och förebygga och identifiera de allvarligaste fallen.

Korrespondens: asa.valve@regionkalmar.se

[Tillbaka till indextabell](#)

(MI-P209) Förekomst av chikungunya hos svenska resenärer vintersäsongen 2018/2019

Maria Andersson(1), Sandra Söderholm (1), Niklas Edner(1) .
(1) *Avdelningen för Mikrobiologi, Folkhälsomyndigheten*

Chikungunya- och denguevirus förekommer i tropiska länder världen runt och sprids via bett från myggor av *Aedes*-släktet. Även om dessa myggor finns huvudsakligen i tropiska och subtropiska områden så förekommer de också i södra Europa. De kliniska symtomen för chikungunya och dengue är likartade med bl.a. feber, utslag och muskelvärk. Ett mer karakteristiskt symptom för chikungunya är mer uttalad ledvärk som kan ge långsiktiga besvär. Även om båda virusinfektionerna ger likartade kliniska besvär och att de förekommer i samma geografiska regioner så är de diagnostiska frågeställningar som kommer in till Folkhälsomyndigheten för dengue betydligt fler än för chikungunya. Sedan 2015 har ca 1800 frågeställningar analyserats för dengue och av dessa har 560 diagnostiserats. Antalet frågeställningar av chikungunya var under samma tidsperiod ungefär 450 varav ca 70 personer diagnostiserades med sjukdomen . Sedan slutet av 2018 har man sett en ökning av rapporterade fall av chikungunya i Thailand, detta ses även i statistiken av inkomna samt antalet verifierade fall hos Folkhälsomyndigheten. Detta har även setts under tidigare större utbrott av chikungunya. Folkhälsomyndigheten kommer under vintersäsongen 2018/2019 analysera alla dengue-frågeställningar även för chikungunya serologi. Detta för att öka kunskapen om spridningen av chikungunya samt för att följa utvecklingen av utbrottet.

Korrespondens: sandra.soderholm@folkhalsomyndigheten.se

[Tillbaka till indextabell](#)

(MI-P210) Molekyläpidemiologi av denguevirus i Afrika baserat på resenärer inkommande till Sverige

John H.-O. Pettersson (2,3,4), Kristian Alfsnes (1), Maria Andersson (2), Nina Lagerqvist (2), Sandra Söderholm (2), Jenny Verner-Carlsson (2).

1 Folkhelseinstituttet, Oslo, Norge 2 Folkhälsomyndigheten, Solna, Sverige 3 IMBIM, Uppsala Universitet, Uppsala, Sverige 4 The University of Sydney, Sydney, Australia

Denguefeber är en virusjukdom som orsakas av ett myggburet flavivirus, dengueviruset, och förekommer i flera subtropiska- och tropiska länder världen runt. Årligen uppskattas det att över 50 miljoner människor insjuknar i denguefeber varav ca. 1% kräver sjukhusvård. I Sverige är denguefeber en anmälningspliktig sjukdom och diagnostiseras Folkhälsomyndigheten genom påvisning av antikroppar och/eller virus-RNA via en denguespecifik PCR. Dengueviruset och dess genetiska variation är generellt välkaraktiserad från Latinamerikanska- och Asiatiska länder. I Afrikanska länder är den publikt tillgängliga genetiska informationen relativt begränsad, trots att dengueviruset antas vara endemiskt i flertalet Afrikanska länder samt att många icke-Afrikanska länder mottar resande som insjuknat i denguefeber strax innan eller efter hemkomst. Därför är det av vikt att kartlägga den tillgängliga genetiska informationen för att bland annat uppdatera diagnostiska metoder och studera spridning av dengueviruset inom och mellan Afrika. I en pågående studie tillsammans med det norska Folkehelseinstituttet, har vi sekvenserat hela denguevirusgenomet från närmare 30 patientprover från resenärer som har besökt olika Afrikanska länder och sedermera insjuknat i denguefeber efter ankomst till Sverige eller i samband med resan till Sverige. Preliminära fylogeni-baserade molekyläpidemiologiska analyser visar att (i) de undersökta patientproverna med afrikanskt ursprung hör till dengueserotyperna 1–3 och inget prov till serotyp 4; (ii) majoriteten av sekvenserna från Afrika grupperar sig med tidigare sekvenserade Afrikanska dengue-sekvenser i förhållande till ursprungsregion; (iii) denguevirus som cirkulerar i Afrika har generellt introducerats och etablerats från andra länder/regioner till Afrikanska länder än vice versa; (iv) denguevirus har, för serotyperna 1–3, introducerats flera gånger till olika länder i Afrika. I takt med att denguefeber blir mer uppmärksammat i Afrika, ökar också behovet av att ha metoder som säkerställer att en eventuell denguefeberinfektion kan påvisas med PCR, men också för att studera ursprung och spridning av dengueviruset.

Korrespondens: john.pettersson@folkhalsomyndigheten.se

[Tillbaka till indextabell](#)

(MI-P211) Restoration of the gut microbiome by fecal microbiota transplantation, in *Clostridium difficile* infected patients, was initiated by a community shift involving six key bacterial families.

Malin Bergman Jungeström, Jie Xu, Lena Serrander.
Klinisk mikrobiologi, DC, US Linköping

Objective: Fecal microbiota transplantation (FMT) has been used in hospitals in Sweden for a long time and has shown high efficacy in treating patients with *Clostridium difficile* (CD)-associated diarrhea. Research reports on how microbial changes occur after FMT are still sparse. Thus, we examined the fecal microbiome composition in CD-patients before and after FMT, and also the associated fecal donors.

Materials and methods: Fresh fecal samples were collected from 4 healthy donors, with multiple donations, and 16 recurrent CD infected (CDI) patients, before, and 2 weeks and 2 months after FMT. Total DNA was extracted from the fecal samples and V3-V4 region of the 16S rRNA genes were targeted for NGS microbiome survey.

Results: Fourteen out of sixteen CDI-patients recovered after FMT. Before FMT their fecal microbiome was very poor with low diversity, dominated by Gammaproteobacteria (Enterobacteriaceae). Following FMT, Enterobacteriaceae was diminished, accompanied by increases in the bacterial families belonging to Bacteroidales (e.g. Bacteroidaceae and Porphyromonadaceae) and families belonging to Clostridiales (e.g. Lachnospiraceae and Ruminococcaceae). The patient's microbiota diversity significantly increased ($P < 0.05$) to a level that is not significantly different from the healthy donors. At sub-community level, bacterial families known to produce short chain fatty acids (SCFAs) became abundant and formed a significant co-occurrence network after FMT.

Conclusion: Our study indicates that successful FMT for the recurrent CDI patients do not require full engraftment of donor's microbiota; rather the establishment of a network of sub-communities of key species may be important in order to normalize the gut environment and keep the CD away.

Korrespondens: malin.bergman.jungestrom@regionostergotland.se

[Tillbaka till indextabell](#)

(MI-P212) Serodiagnosis of Lyme borreliosis – is IgM in serum more harmful than helpful?

Henrik Hillerdal (1), Anna J Henningsson (2).

(1) Barn- och ungdomsmedicinska kliniken, Länssjukhuset Ryhov Region Jönköpings län (2) Överläkare, Klinisk mikrobiologi, Region Jönköpings län (2) Docent, universitetslektor, Institutionen för klinisk och experimentell medicin, Linköpings universitet

Bakgrund: Diagnos av borreliainfektioner skall enligt rådande rekommendation baseras utifrån en noggrann anamnes, klinisk undersökning med objektiva fynd talandes för en infektion tillsammans med specifika serologiska fynd, vid samtliga diagnoser förutom vid erythema migrans vilket är en strikt klinisk diagnos. Då serologisk tolkning rörande borreliadiagnostik kan vara komplicerat och ofta IgM-positivitet i serumprov är vidhäftad med ett antal svagheter så finns risk för att det i den kliniska vardagen sker överdiagnostik av borreliainfektioner vilket sannolikt leder till ökat antibiotiketryck och potentiell reststentusutveckling, fördröjning av korrekt bakomliggande diagnos

Syfte: Med studien hoppas vi kunna bilda oss en uppfattning om hur väl kliniska riktlinjer efterföljs avseende borreliadiagnostik, samt att utvärdera det kliniska värdet av IgM-antikroppar i serum. Tillför den något i diagnostiken eller är det snarare så att den förvirrar mer än den hjälper?

Metod: Genom att studera samtliga positiva borreliaserologier tagna under 2017 inom Region Jönköping ämnar vi försöka få grepp om huruvida positiva IgM-antikroppar påverkar diagnostiken i vardagen, samt utifrån journalanteckningar utröna om provtagningsindikationen är i enlighet med gällande rekommendationer och om det är relevanta kliniska beslut som fattas med hjälp av serologin. Vi delar in de positiva serologierna i tre grupper; IgG, IgM, samt IgG- och IgM-positiva och kommer därefter jämföra flertalet parametrar grupperna emellan.

Slutsats: Förhoppningen är att vi efter genomförd studie, som kommer att pågå under våren 2019 fram till infektions- och mikrobiologiveckan i maj, kommer kunna ge en fingervisning avseende det kliniska värdet av IgM i serum vid borreliadiagnostik.

Korrespondens: henrik.hillerdal@rjl.se

[Tillbaka till indextabell](#)

(MI-P213) Detection of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in a recently established population of the taiga tick, *Ixodes persulcatus* in Sweden

Peter Wilhelmsson (1), Thomas G.T Jaenson(2).

(1) Department of Clinical Microbiology, Division of Medical Services, Ryhov County Hospital, Jönköping, Sweden, and Division of Medical Microbiology, Department of Clinical and Experimental Medicine, Linköping University, Linköping, Sweden. (2) Medical Entomology Unit, Department of Organismal Biology, Evolutionary Biology Centre, Uppsala University, Uppsala, Sweden

The tick species *Ixodes ricinus* and *Ixodes persulcatus* are the main vectors of Lyme borreliosis spirochetes in the western and eastern parts, respectively, of the Palearctic region. In parts of Russia and Finland *I. persulcatus* has increased its range and abundance. Recently permanent populations of the taiga tick, *I. persulcatus* were detected for the first time in northern Sweden. This prompted us to investigate the potential occurrence of different genospecies of Lyme borreliosis spirochetes in the taiga tick in northern Sweden. In May-July 2016 *I. persulcatus* ticks were collected by the cloth-dragging method at five mixed woodland, island localities in the Bothnian Bay, province of Norrbotten, northern Sweden. Ticks were microscopically and molecularly identified to developmental stage and species and screened for *Borrelia spp.* using quantitative PCR. The *Borrelia* genospecies composition of the quantitative PCR-positive samples was determined by conventional PCR followed by sequencing. A total of 266 *I. persulcatus* ticks [134 adult males (50%), 127 adult females (48%), and 5 nymphs (2%)] were collected and screened for the presence of *Borrelia spp.* Overall, 58% of the ticks (155 of 266) contained *Borrelia spp.* There were no significant differences in prevalence between developmental stages or sex of adult ticks (adult males, 57%; adult females, 58%; nymphs 80%). Three *Borrelia species* were identified by sequence analysis. *B. afzelii* was the predominant species and was detected in 46% of all ticks containing *Borrelia*, followed by *B. garinii* (33%), *B. valaisiana* (1%), and mixed infection of *Borrelia species* (1%); 19% could not be identified to species. Here we report for the first time the presence of Lyme borreliosis spirochetes in the taiga tick collected from Sweden. Our results suggest a twofold higher prevalence of *Borrelia spp.* in this *I. persulcatus* population compared to *I. ricinus* from more southern regions of Sweden.

Korrespondens: peter.wilhelmsson@liu.se

[Tillbaka till indextabell](#)

(MI-P214) CXCL13 i diagnostik av neuroborrelios - utvärdering av ReaScan CXCL13 på färska, frusna respektive kylförvarade likvorprover

Anna J Henningsson(1, 2), Malin Lager (1), Paula Gyllemark (3), Gädda Andersson (1), Oskar Ekelund (4), Martin Sundqvist (5).

(1) Klinisk mikrobiologi, Region Jönköpings län, (2) Institutionen för Klinisk och Experimentell Medicin, Linköpings Universitet, (3) Infektionskliniken, Region Jönköpings län, (4) Klinisk mikrobiologi, Region Kronoberg (5) Klinisk mikrobiologi, Region Örebro län

Bakgrund: Enligt europeiska guidelines krävs neurologiska symtom, pleocytos i cerebrospinalvätska och intratekal produktion av Borrelia-specifika antikroppar för att diagnosen neuroborrelios (NB) ska vara säkerställd. Dock kan intratekal produktion av specifika antikroppar saknas tidigt i infektionsförloppet, varvid analys avseende CXCL13 i likvor kan vara av diagnostiskt värde. CXCL13 är en B-cellsattraherande kemokin som i flertalet studier visat sig vara kraftigt förhöjd i likvor redan vid tidig NB. Dessutom har man visat att CXCL13 sjunker snabbt efter initiering av antibiotikabehandling. CXCL13 har därför alltmer börjat användas som ett komplement till serologisk diagnostik av NB, ffa i tidiga fall där intratekala antikroppar ännu inte kan påvisas samt som markör för aktiv infektion eller terapeutisk respons. Vi utvärderade snabbtestet ReaScan CXCL13 på kliniska likvorprover från patienter utredda för misstänkt NB.

Metod: Vi analyserade likvor från 221 patienter utredda för misstänkt NB; 121 av dessa var retrospektiva prover som förvarats i -20 grader en längre tid och även varit tinade 1-2 gånger förut, 100 prover var färska. Resultat erhållna med det immunkromatografiska snabbtestet ReaScan CXCL13 jämfördes med resultat från den Luminex-baserade metoden recomBead CXCL13. Dessutom analyserades effekterna på analysresultaten efter att proverna kylförvarats respektive frysts och tinats upprepade gånger.

Resultat: I det retrospektiva materialet var ReaScan-testets sensitivitet 77% och specificitet 100%, jämfört med 86% respektive 100% för recomBead. Datasammanställning och analys av resterande prover pågår, men preliminära resultat visar att låga/måttligt förhöjda CXCL13-nivåer kan påverkas av hur provet hanterats och förvarats.

Diskussion: Den diagnostiska prestandan var i det retrospektiva materialet jämförbart mellan ReaScan CXCL13 och recomBead CXCL13, dock med något lägre känslighet för ReaScan-testet. Resultaten kan dock möjligen ha påverkats av att de retrospektivt insamlade proverna hade förvarats i -20 grader en längre tid samt att de även varit upptinade 1-2 gånger förut. Därför utvidgades utvärderingen med 100 färska likvorprover och vi undersökte systematiskt hur frys- respektive kylförvaring av proverna påverkar de uppmätta CXCL13-nivåerna. Slutliga resultat följer.

Korrespondens: anna.jonsson.henningsson@rjl.se

[Tillbaka till indextabell](#)

(MI-P215) Förhöjt CXCL13 i likvor - om inte neuroborrelios, vad är det då?

Anna J Henningsson (1, 2), Haitham Baqir (1), Lena Serrander (1, 2).

(1) Klinisk mikrobiologi, Region Östergötland (2) Institutionen för klinisk och experimentell medicin, Linköpings universitet

Bakgrund: Enligt europeiska guidelines krävs neurologiska symtom, pleocytos i cerebrospinalvätska och intratekal produktion av *Borrelia*-specifika antikroppar för att diagnosen neuroborrelios (NB) ska vara säkerställd. Dock kan intratekal produktion av specifika antikroppar saknas tidigt i infektionsförloppet, varvid analys avseende CXCL13 i likvor kan vara av diagnostiskt värde. CXCL13 är en B-cellsattraherande kemokin och har i flertalet studier varit kraftigt förhöjd i likvor redan vid tidig NB. Dessutom har man visat att CXCL13 kan vara användbart för att skilja NB från andra tillstånd i CNS. Vi har i ett svenskt patientmaterial utvärderat det differentialdiagnostiska värdet av CXCL13-analys i likvor vid NB.

Metod: CXCL13 analyserades i likvor från 560 patienter hos vilka man beställt analys avseende intratekala *Borrelia*-specifika antikroppar. CXCL13-analyserna utfördes antingen med recomBead CXCL13 (Mikrogen) eller ReaScan CXCL13 (Reagentia), och de av tillverkarna rekommenderade referensintervallen för låga, höga respektive gränsvärden tillämpades. Europeiska diagnoskriterier användes för att klassificera NB-patienter som säkerställd NB (pleocytos och intratekala *Borrelia*-specifika antikroppar) och trolig NB (typiska neurologiska symtom, pleocytos men ännu ej påvisbara intratekala *Borrelia*-specifika antikroppar).

Resultat: Av patienterna med säkerställd NB (n=56) hade 96% högt eller gränsvärde för CXCL13. För patienterna med trolig NB (n=14) var motsvarande siffra 64%. Av patienter med säkerställd infektion orsakad av neurotrofa virus (n=32) hade 28% höga eller gränsvärden för CXCL13 i likvor. De 3 patienter som hade höga värden hade TBE (2 st) respektive West Nile encefalit (1 st). Av de patienter som fått andra CNS-diagnoser (n=23) hade 61% höga eller gränsvärden för CXCL13; bland de 9 som hade höga värden återfanns CNS-lymfom, dipeptidylaminopeptidas liknande protein 6 (DPPX)-encefalit, multipel skleros, Guillain-Barré och sarkoidos. Hos 435 patienter kunde inte någon specifik CNS-diagnos fastställas, och av dessa var det endast 1% som hade högt eller gränsvärde för CXCL13 i likvor.

Slutsats: CXCL13-analys i likvor har ett differentialdiagnostiskt värde vid NB, men bör vägas samman med klinisk bild och övriga diagnostiska fynd (laboratorieanalyser, radiologiska undersökningar) då det finns några infektiösa, inflammatoriska och maligna tillstånd som också kan inducera höga nivåer av CXCL13.

Korrespondens: anna.jonsson.henningsson@rjl.se

[Tillbaka till indextabell](#)

(MI-P216) Serological profile of TBE-infected patients in a vaccinated community – can you tell the difference?

B. Albinsson (1, 2), Å. Lundkvist (1, 2), S. Vene (4), J. Blomberg (2, 3), B. Rönnerberg (1, 2)
(1) Laboratory of Clinical Microbiology/Virology, Uppsala University Hospital, Uppsala, Sweden. Part of Uppsala Academic laboratory (AL). (2) Department of Medical Biochemistry and Microbiology, Zoonosis Science Center, Uppsala University, Uppsala, Sweden. (3) Department of Medical Sciences, Uppsala Academic Hospital, Uppsala University, Uppsala, Sweden. (4) Public Health Agency of Sweden, Stockholm, Sweden.

Tick-Borne Encephalitis virus (TBEV) is an enveloped RNA virus of the family Flaviviridae, causing a typical bi-phasic disease with severe central nervous system disorder in approx. 25% of the symptomatic cases. The infection is acquired via a bite of an Ixodes tick. Two vaccines (Encepur/GSK and FSME-Immun/Pfizer), both based on inactivated whole virus preparations, are used on the Swedish market. TBEV non-structural protein 1 (NS1)-antigen is not present in existing vaccine preparations, so vaccinees are not expected to develop any antibodies against NS1. Our aim was to develop a test that could differentiate between TBEV vaccinated and TBEV exposed patients by testing serological response to TBEV NS1 antigen. Examples of applications: recently vaccinated patients with TBE symptoms, vaccine failure investigations and studies on seroprevalence.

We have compared sera from 50 patients with acute/recent TBE infection to 50 people vaccinated for TBE. From the latter group, we tested sera taken at three different time points post-vaccination.

The sera from patients with acute TBE infection all had a serologic profile consistent with acute/recent TBE infection using Siemens Enzygnost TBE IgG/IgM ELISA test (Siemens AG, Germany), confirmed with ReaScan TBE IgM (Reagentia Oy, Finland).

All sera were then tested in a newly developed (Luminex) Suspension Multiplex Immuno Assay (SMIA, Rönnerberg et al. 2017) using both whole virus (wv) and NS1-antigens, for the presence of IgM and IgG.

All sera from the 50 patients were positive for both IgM and IgG using wv antigen in the SMIA. Most vaccinees (47/50) were antibody positive (IgG) for wv-antigen, but there was no detectable antibody response at all in three cases (primary vaccine failure?).

All but two (48/50) of the samples from the 50 patients were positive for IgM or IgG using NS-1 antigen. Only three serum from the vaccinated group (3/50) was found positive for IgM or IgG to NS-1 antigen. In one case, possibly due to a TBE infection during the study period.

By comparing antibody reactivity against the whole virus and the NS-1 antigens we can to a high degree serologically distinguish TBE-infected patients from vaccinated.

Korrespondens: bo.albinsson@akademiska.se

[Tillbaka till indextabell](#)

(MI-P217) Dags att byta till blododling med ett stick!

Claes Henning (1), Anders Bengtsson Lundqvist (2) Elin Edman-Haglund (3) Gunnar Jacobsson (3,4) Maria Palmé (5) Hanna Ramström (5) Michael Stofkoper (2) Michael Toepfer (5).

(1) Mikrobiologiska laboratoriet, Södra Älvsborgs sjukhus (SÄS), Borås (2) Infektionsenheten, Södra Älvsborgs sjukhus (SÄS), Borås (3) Infektionskliniken, Skaraborgs sjukhus (SKAS), Skövde (4) CARE - Centre for Antibiotic Resistance Research, Inst f Biomedicin, Göteborgs Universitet (5) Mikrobiologiska laboratoriet, Unilabs, Skövde

Sammanfattning: Blododling med två stick rekommenderas i de flesta provtagningsanvisningar, även om European Manual of Clinical Microbiology (2012) anger ett stick som ett alternativ. Vi har jämfört fyra flaskor (40 mL) från ett stick med fyra flaskor från två stick från samma patient.

Material och metoder: Drygt 500 konsekutiva patienter ≥ 18 år där blododling ordinerades på vardera akutmottagningarna SÄS och SKAS november 2018 till januari 2019 ingick i undersökningen. BactAlert FA Plus AR (aerob) och BactAlert FN Plus NR (anaerob) fylldes alternerande med 10 mL blod per flaska. Flaskor 1-4 från bästa provtagningsställe (perifer ven eller PVK) och flaskor 5-6 från näst bästa provtagningsställe i andra armen. Signifikant växt och förorening med hudbakterier bedömdes enligt laboratoriealgoritm. Därefter jämfördes resultaten från ett stick (flaska 1-4) med resultaten från två stick (flaska 1-2 + 5-6).

Resultat: Totalt ingick 1043 patienter (SÄS 534, SKAS 509) i studien och 998 kunde värderas. Preliminära resultat bedömda enligt laboratoriealgoritm. Signifikant växt i flaskor 1+2+3+4 i 100/998 (10,0 %) fall. Signifikant växt i flaskor 1+2, 5+6 i 101/998 (10,1 %) fall. Signifikant växt sammanlagt i flaskor 1-4 och 5-6 i 112/998 (11,2 %) fall; dvs 11 % fler positiva fall när den undersökta blodvolymen ökades från 40 mL till 60 mL. Hudbakterier identifierades i flaskor 1+2+3+4 i 35/998 (3,5 %) fall. Hudbakterier identifierades i flaskor 1+2, 5+6 i 45/998 (4,9 %) fall. Chi-square=2,44; p=0,12. I en undergrupp jämfördes förekomsten av hudbakterier när blod till flaska 1 AE tagits från perifer ven 16/318 (5,0 %) mot nyinsatt PVK 3/193 (1,6 %). Chi-square= 4,06 ; p=0,044.

Konklusion: Blododling bör tas som fyra flaskor i följd från bästa provtagningsställe med ett stick. Det ger mindre besvär för patienten, sparar material och tid och kan ge tillfälle till tidigare insatt antibiotikabehandling. Fyra flaskor i ett stick leder dessutom till färre tolkningsproblem av hudbakterier än två stick. Andel blododlingar med signifikant växt är samma vid ett stick och vid två stick. Blododlingen kan tas både ur nyinsatt PVK eller direkt från perifer ven.

Korrespondens: claes.henning@vgregion.se

[Tillbaka till i ndextabell](#)

(MI-P218) Snabbare svarstider för blododlingar efter utlokalisering av blododlingsskåp inom Karolinska Universitetslaboratoriet

Karolina Ininbergs (1,3), Sharareh Sheikholeslami (1), Monica Kedfors Holm (2), Volkan Özenci (2,3), Projekt- och styrgrupp Blododling KUL 24Sju (1,2,4,5,6), Förvaltning KUL 24Sju Mikrobiologi (1,5).

(1) Klinisk Mikrobiologi, Karolinska Universitetslaboratoriet, Solna (2) Klinisk Mikrobiologi, Karolinska Universitetslaboratoriet, Huddinge (3) Institutionen för Laboratiemedicin, Karolinska Institutet, Huddinge (4) KUL Informatik och IT, Karolinska Universitetslaboratoriet (5) Klinisk Kemi, KUL 24Sju, Karolinska Universitetslaboratoriet (6) Laboratorier för närvård och preanalys, Karolinska Universitetslaboratoriet

Sepsis är ett livshotande tillstånd där tid till rätt antibiotika är avgörande för patientens överlevnad. Mikrobiologisk diagnostik med art- och resistensbestämning från positiva blododlingar är ett viktigt led i behandlingen av dessa svårt sjuka patienter. Karolinska Universitetslaboratoriet (KUL) hanterar varje år drygt 100 000 remisser för blododling. Cirka 98 % av proven kommer från slutenvården, framför allt från regionens stora akutsjukhus: Karolinska Universitetssjukhuset i Solna och Huddinge, Danderyds sjukhus, samt Södersjukhuset. En tidigare studie har visat att total detektionstid påverkas negativt av långa transporttider, och belyst värdet av att placera blododlingsskåp närmare patienter (Rönnerberg et. al. 2013). Under 2017 startades projektet Blododling KUL 24Sju, ett samarbete mellan tre funktionsområden inom KUL: Klinisk mikrobiologi, LNP (Laboratorier för närvård och preanalys) samt Klinisk Kemi och KUL 24Sju. Projektet har varit en del av det övergripande programmet KUL 24Sju. Syftet med projektet har varit att förkorta svarstider för blododlingar genom att utnyttja dygnet runt-verksamheten inom Klinisk kemi (KUL 24Sju) för insättningar av blododlingar i automatiserade blododlingssystem följt av vidare skickning av positiva odlingar till det mikrobiologiska laboratoriet. 2018 påbörjades utlokaliseringen av blododlingssystemet BacT/ALERT VirtuO från bioMérieux, samt implementeringen av mjukvarulösningen Myla för samordning av resultatdata. I dagsläget har sju (av totalt 10) blododlingssystem etappvis driftsatts på tre av totalt fyra KUL 24Sju-laboratorier: Karolinska Universitetssjukhuset i Solna och Huddinge samt Danderyds sjukhus. Preliminär datasammanställning visar på en förbättring i mediantid från provtagning hos vårdgivaren till dess att blododlingsflaskor placeras i skåp på upp till 90%, samt mellan 20-25 % (ca 7 timmar) i mediantid till första preliminära svaret vid positiva odlingar. Vi ser även en positiv effekt i att dygnet runt-insättning av flaskor resulterar i att en större andel flaskor larmar positiva under ordinarie arbetstid då det mikrobiologiska laboratoriet håller öppet vilket också bidrar till förbättringen i omloppstider. Studier pågår för att effektivisera transporter av positiva blododlingsflaskor till det mikrobiologiska laboratoriet samt för att utvärdera effekten av eventuell fördröjning från positivitet till start av snabbodling.

Korrespondens: karolina.ininbergs@sll.se

[Tillbaka till indextabell](#)

(MI-P219) Utvärdering av BD Phoenix™ för automatiserad resistensbestämning

Susann Skovbjerg (1, 2), Marie Lignell (1), Sara Gianello (1), Fedaa Haj Salem (1), Åsa Strandberg (1).

(1) Klinisk Mikrobiologi, Sahlgrenska Universitetssjukhuset, Göteborg, (2) Avd för Infektionssjukdomar, Sahlgrenska Akademin, Göteborgs Universitet

Bakgrund: Automatiserad resistensbestämning kan medföra snabbare svar till vården. Kliniska konsekvenser av påvisad antibiotikaresistens ställer emellertid krav på tillförlitlighet. I denna studie undersöker vi om BD Phoenix kan användas i rutindiagnostik, och utmanar systemet med kliniska stammar med varierande antibiotikakänslighet inklusive välkarakteriserade multiresistenta isolat.

Metod: Resistensbestämning utfördes med BD Phoenix AP och BD Phoenix™ M50 instrument på kliniska isolat av *E. coli* (n=69), *Klebsiella spp.* (n=62) och *S. aureus* (n=74). Resultaten uttryckta som S, I eller R jämfördes med lappdiffusionsmetodik och/eller E-tester utförda manuellt på Klinisk Mikrobiologi, Sahlgrenska Universitetssjukhuset, Göteborg under våren 2018. Resultat från BD Phoenix jämfördes även med resultat erhållna med buljongspädning utförd i Växjö på 12 isolat av *E. coli* och 3 *Klebsiella*. Av *E. coli* och *Klebsiella* isolaten hade 30 känd ESBL/AmpC resistens, och ytterligare 22 var bärare av ESBLCARBA gener, varav 11 isolat var meropenemkänsliga. 10 *S. aureus* isolat hade inducerbar klindamycin-resistens, och 15 var meticillin-resistenta (MRSA).

Resultat: Totalt överensstämde 826/853 (96,8%) tester för *E. coli* och 553/606 (91,3%) för *Klebsiella* med avseende på SIR-kategori vid jämförelse av BD Phoenix med lappdiffusion för 15 olika antibiotika. Lägst överensstämmelse sågs för *E. coli* och ciprofloxacin (90%) och för *Klebsiella* och piperacillin/tazobactam (79%). För samtliga ESBL/AmpC isolat överensstämde resultaten för cefadroxil, cefotaxim och ceftazidim. För meropenem var överensstämmelsen 97% för *E. coli* och 84% för *Klebsiella*. Samtliga överensstämde dock 100% med avseende på gränsvärdena för screening av karbapenemaser. För *S. aureus* överensstämde resultaten med BD Phoenix i 754/774 (97,4%) analyser av 11 olika antibiotika. BD Phoenix rapporterade samtliga isolat med inducerbar klindamycin-resistens som resistenta för klindamycin, och alla MRSA som R för cefoxitin. Jämförelse mellan BD Phoenix och buljongspädning visade överensstämmelse med avseende på SIR kategori i 231/242 (95,5%) analyser av 22 olika antibiotika. I genomsnitt tog resistensbestämning med BD Phoenix 14 timmar. Slutsats: Resultaten visar god överensstämmelse mellan automatisk resistensbestämning och traditionell lappdiffusionsmetodik. Diagnostiken bör dock kompletteras med buljongspädning för nedsatta isolat med komplicerat resistensmönster, i synnerhet där MIC-värdet ligger nära gränsvärde, eller när exakt MIC-värde efterfrågas. BD Phoenix är något snabbare än manuell resistensbestämning, men kräver fortfarande viss manuell hantering.

Korrespondens: susann.skovbjerg@vgregion.se

[Tillbaka till indextabell](#)

(MI-P220) Utvärdering av Amplidiag *H. pylori*+ClariR för diagnostik av *H. pylori* i vävnad

Karin Amilon (1), Malin Grabbe (1), Claudia Beck Eichler Jonsson (1), Christian G. Giske (1).
(1) Klinisk mikrobiologi, Karolinska Universitetslaboratoriet, Karolinska Universitetssjukhuset, Solna

Helicobacter pylori orsakar kronisk gastrit och peptiskt magsår och har associerats med mukosa-relaterad lymfvävnadslymfom samt gastriskt adenocarcinom. Diagnostiska tester finns både för invasiva och icke-invasiva prover. Vid invasiv provtagning tas en biopsi för odling från ventrikelslemhinnan med hjälp av endoskopi. Odling av *H. pylori* från biopsi är komplicerad och tidskrävande. Bakterierna är svagväxande och kräver en mikroaerofil miljö, korrekt transport och varsam hantering är därför avgörande för att isolera den infekterande stammen. Oodling kan behövas vid misstanke om fel hantering eller miljö, vilket leder till långa svarstider och merarbete. Vid isolering av *H. pylori* utförs resistensbestämning med gradienttest, men även här påverkas utfallet av bakteriernas svagväxande och känsliga natur. Ett alternativ till odling är önskvärt för att öka känsligheten, förkorta svarstiden och reducera arbetsbördan. Amplidiag *H. pylori*+ClariR från Mobidiag är en multiplex real-tids PCR för detektion av *H. pylori* med samtidig påvisning av de två vanligaste resistensmutationerna mot Klaritromycin. PCR har hög känslighet och är enkelt och snabbt att utföra. För utvärdering användes 57 kliniska prover och spädningar av en kontrollstam. DNA extraherades på MagNa Pure 96 (Roche) och amplifierades på Bio-Rad CFX 96 enligt tillverkarens protokoll. Resultatet jämfördes retrospektivt med tidigare utförd odling och gradienttest. För detektion av *H. pylori* var sensitiviteten 100% och specificiteten 92%. Två negativa odlingar gav positivt resultat i PCR, vilket exemplifierar nackdelen med att endast levande bakterier detekteras med odling. För resistensbestämning av Klaritromycin var sensitiviteten 95%. Ett prov som bedömts resistent med gradienttest blev känsligt i PCR, vilket kan vara en konsekvens av att endast de två vanligaste resistensmutationerna identifieras, eller att gradienttestet inte är en tillförlitlig referensmetod. Specificiteten var däremot 100%. Ett intressant fynd var att 4/57 biopsier innehöll en blandning av känsliga och resistentastammar, vilket inte hade varit möjligt att detektera med odling. Amplidiag *H. pylori*+ClariR kommer införas i rutindiagnostiken som ett komplement till odling för att identifiera positiva prov, som därefter odlas och resistensbestäms med gradienttest för vidare utvärdering. Införandet kommer innebära säkrare negativa svar, reducerade svarstider, minskat överarbete och en avsevärd förbättring av *H. pylori*-diagnostiken.

Korrespondens: karin.amilon@sll.se

[Tillbaka till indextabell](#)

(MI-P221) Införande av ny metod för påvisande av *Mycoplasma genitalium* makrolidresistens på Klinisk mikrobiologi Karolinska Universitetslaboratoriet

Penelope Ann Shah, Hamzah Safari, Johan Aarum, Eva-Lena Ericson.
(1) Klinisk mikrobiologi Karolinska Universitetssjukhuset

Bakgrund: *Mycoplasma genitalium* är en av de viktigaste sexuellt överförbara sjukdomarna i Sverige och är lika vanligt förekommande som *Chlamydia trachomatis*. Det är välkänt att *M. genitalium* är mycket svårödlad och har utvecklat både makrolidresistens mot azitromycin och fluorokinoloner. Det är angeläget att upptäcka makrolidresistens mot mycoplasma tidigt för att så snabbt som möjligt kunna sätta in korrekt behandling.

Metod: Av erfarenhet vet man att det är svårt att upptäcka resistens vid sekvensering av svagt positiva prov med Ct-värde över 35. Vi har därför infört ett dubbelt PCR-steg innan sekvensering (nestnings-PCR) vilket förbättrat resultatet för många svagt positiva Mg- prov. Tidigare analyserade vi endast de prov där kunden begärt resistensbestämning.

Resultat: Statistik från 2017, visade att av 96 *M. genitalium* (Mg) positiva prov där kund begärt resistensbestämning för makrolider så uppvisade 77 stycken (80 %) mutationer kopplade till resistens medan 19 stycken (19,79 %) inte gjorde det. De höga värdena gjorde att vi övergick till att analysera makrolidresistens på alla positiva Mg-prov, även de som var svagt positiva (Ct värde > 35). I och med detta har vi kunnat se en tydlig ökning av antalet makrolidresistenta prov. Bland 1106 positiva Mg-prov som analyserades avseende makrolidresistens, utan att kunden specifikt begärt det, upptäcktes att 322 (29,11 %) påvisade mutationer kopplade till resistens medan 784 stycken (70,89 %) inte gjorde det.

Slutsats: Både införandet av nestnings-PCR för svagt positiva Mg-prov och att analysera alla positiva Mg-prov, oavsett Ct-värde, har förbättrat kvalitén på behandlingen. Makrolidresistens bland våra positiva Mg-prov är vanligare än i tidigare publicerade studier från olika regioner i Sverige och pekar på en ökad makrolidresistens bland Mg i Sverige.

Korrespondens: penelope.puray-shah@sll.se

[Tillbaka till indextabell](#)

(MI-P222) Utvärdering av metoder för resistenspåvisning av makrolider i *Mycoplasma genitalium*

Björn Herrmann, Karolina Gullsby (1,2), Linda Lindh(1), Ruben Adriaenssens(3), Karin Malm(3).
(1)Enheten för klinisk mikrobiologi, Region Gävleborg, Gävle (2)Centrum för forskning och utveckling, Uppsala Universitet/ Region Gävleborg, Gävle (3) Sektionen för klinisk mikrobiologi, Akademiska sjukhuset, Region Uppsala, Uppsala

Bakgrund: *Mycoplasma genitalium*-infektioner överförs sexuellt och vid behandling är azithromycin förstahandsvalet. Makrolidresistens, kopplat till mutationer i position 2058 och 2059 i 23S rRNA genen (*E. coli* numrering), är ett växande problem med 15-20 % resistens i Sverige och 40 % i stora delar av Europa. God metodik för påvisande av makrolidresistens är därför allt viktigare.

Metoder: Ett hundra patientprover positiva för *M. genitalium* (realtids-PCR enligt Skov-Jensen et al, 2004) insamlades mellan september 2016 och maj 2017 i Region Gävleborg. Proverna analyserades för makrolidresistens med tre realtids-PCR-metoder: ResistancePlus® MG kit (SpeeDx Ltd., Sydney, Australien), S-DiaMGRes™ (Diagenode, Seraing, Belgien) och en FRET realtids-PCR-metod enligt Touati et al. En mjukvara från SpeeDx användes för att analysera resultaten från ResistancePlus® MG kit, medan S-DiaMGRes™ analyserades direkt i mjukvaran i Mic-PCR-instrumentet från Bio Molecular Systems. Femtiotre av proverna sekvenserades för att verifiera resultaten och resistensmutationerna. En kvantifierad DNA-kontroll användes för att jämföra den analytiska sensitiviteten i resistensbestämningsmetoderna och den rutinmetod som används i Gävle för påvisande av *M. genitalium*. Analys med S-DiaMGRes™ gjordes i Uppsala med DNA-eluat som tinats en gång mer än analys av de övriga metoderna.

Resultat: Makrolidresistens påvisades i 15 (15 %), 17 (17 %) och 18 (18 %) av proverna med SpeeDx ResistancePlus® MG, Diagenode S-DiaMGRes™ respektive FRET-PCR. Mutationer verifierades genom sekvensering i 16 av proverna där 11 (69 %) hade A2058G mutationen och fem (31 %) A2059G mutationen. I två lågpositiva prover påvisades mutation med FRET-PCR men bedömdes som vildtyp i SpeeDx analysprogram. Den analytiska känsligheten var 5-10 genomkopior per reaktion med rutin-PCR medan den var 10-25 genomkopior med de tre andra metoderna.

Slutsatser: De tre testade resistensbestämningsmetoderna var användarvänliga men hade något lägre känslighet än rutinmetoden för detektion av *M. genitalium*. Mjukvarans feltolkning i SpeeDx analysprogram behöver utredas mer. Andelen makrolidresistenta *M. genitalium* i Region Gävleborg var likartad med studier i andra delar av Sverige och utgör ett växande problem.

Korrespondens: bjorn.herrmann@medsci.uu.se

[Tillbaka till indextabell](#)

(MI-P223) Uppföljning av kronisk hepatit B med HBV-DNA och kvantitativt HBsAg

Amanda Nyström (1), Mats Haglund (2), Thomas Schön (1).

(1) Avdelningen för Klinisk Mikrobiologi, Länssjukhuset i Kalmar, Region Kalmar Län (2) Avdelningen för Infektionsmedicin, Länssjukhuset i Kalmar, Region Kalmar Län.

Bakgrund: Uppföljning av patienter med kronisk hepatit B sker oftast med HBV-DNA. På senare år har även kvantitativt HBsAg (kHBsAg) använts. Tidigare studier har visat att markörerna mäter olika aspekter av sjukdomsförloppet men även om kHBsAg är väletablerat vid behandlingsuppföljning är det mindre studerat vid uppföljning hos en oselekerad patientgrupp. Syftet med detta projekt var att studera korrelationen mellan kHBsAg och HBV-DNA samt stabiliteten för dessa analyser hos patienter med kronisk hepatit B i Region Kalmar län.

Material och metod: I en retrospektiv studie samlades data från samtliga patienter med hepatit B i Region Kalmar län under 2014–2018. Rutinen har varit att följa samtliga med både kHBsAg och HBV-DNA. HBV-DNA utfördes med Cobas 4800/6800 (Roche) vid Klinisk Mikrobiologi, Universitetssjukhusen i Linköping och Lund. kHBsAg utfördes med Architect (Abbott) vid Klinisk Mikrobiologi, Sahlgrenska Universitetssjukhuset. Korrelation mellan nivåer av kHBsAg och HBV-DNA undersöktes vid första provtagning inom studieperioden. Patienter med negativt resultat i HBV-DNA och/eller kHBsAg <1.0 IU/mL initialt exkluderades. Dessutom undersöktes stabiliteten över tid mätt som andel inom $\pm 15\%$ av ursprungsvärdet (medelspridning på 0.5 log) hos patienter med minst 3 uppföljande prover.

Resultat: Sammanlagt fanns data för 303 patienter med en medelålder av 35.6 år. 41 % av dessa var kvinnor. Medelvärdet för kHBsAg vid första provtagning inom studieperioden, 3.41 log IU/mL (SD 0.98) var i samma nivå som för HBV-DNA (3.28 log IU/mL (SD 1.84)). Det förelåg en signifikant korrelation men på låg nivå mellan kHBsAg och HBV-DNA ($R^2=0.16$, $p<0.001$) vilken var tydligare för patienter med HBV-DNA >4 log IU/ml ($R^2=0.48$, $p<0.001$). Av 139 patienter med 3 eller fler uppföljande prover (n=556 totalt) låg kHBsAg inom metodvariationen för 93.5 % (130/139). För HBV-DNA låg 13.7 % totalt inom metodvariationen.

Konklusion: I denna retrospektiva utvärdering av kHBsAg i tillägg till HBV-DNA vid uppföljning av en oselekerad grupp patienter med kronisk hepatit B noterades stabila nivåer över tid framförallt för kHBsAg där färre än 7 % låg utanför metodvariationen. En god korrelation observerades mellan kHBsAg och HBV-DNA för patienter med HBV-DNA >4 log IU/mL. Våra resultat tyder på att uppföljande provtagning med kHBsAg har begränsat värde vid HBV-DNA >4 log IU/mL.

Korrespondens: amanda.nystrom@regionkalmar.se

[Tillbaka till indextabell](#)

(MI-P224) Införande av ny metod för HDV-RNA kvantifiering på Klinisk mikrobiologi Karolinska Universitetssjukhuset

Annie Hsieh, Hamzah Safari, Niklas Björkström, Shaman Muradrasoli .
(1) *Klinisk mikrobiologi Karolinska Universitetslaboratoriet*

Bakgrund: Hepatit D virus (HDV) orsakas av ett virus som kräver samtidig infektion med hepatit B virus (HBV). Infektionen sker antingen som en superinfektion hos patienter med kroniskt HBV infektion eller som en co-infektion med båda virus. Vid superinfektion kan även HDV bli kronisk vilket på sikt kan leda till utveckling av cirros och leverfibros. För att fastställa om patienten var infekterad med HDV, analyseras proven (serum) först med serologi för HDV. Tidigare skickades serologiskt HDV-positiva prov till Sahlgrenska Universitetssjukhuset för HDV-RNA kvantifiering. För att minska hanteringen med skickning av prov och korta svarstiderna önskade vi själva införa HDV-RNA kvantifiering.

Metod: Valideringen omfattade flera olika provmaterial, extraktionsmetoder och PCR-kit. Plasma visade sig vara det bästa provmaterialet och en manuell extraktionsmetod visade bättre resultat än automatiserade extraktionsmetoder. Bland utprovade PCR-kit korrelerade RoboGene HDV-RNA quantification-kit (analytikjerna) bäst gentemot olika spädningar av en WHO standard. HDV-RNA quantification-kit (analytikjerna) metoden visade även en 100 % överensstämmelse med flera olika kvalitativa externa paneler.

Slutsats: Sedan införandet av vår nuvarande metod (som analyseras en gång/vecka) har våra svarstider halverats, från tidigare nio arbetsdagar till nuvarande fem. Samtidigt har provantalet ökat senaste åren och det har skett en ökning av nydiagnostiserade fall av HDV sannolikt till följd av migrationen. De senaste åren har 70-80 nya fall rapporterats.

Korrespondens: annie.hsieh@sll.se

[Tillbaka till indextabell](#)

(MI-P225) Verifiering av Quantiferon-TB Gold Plus med CLIA på plattformen Liaison XL

Sandra Brantestig (1), Annica Kinnunen (1), Robert Dyrdak (1,2) Karin Restorp (1), Jenny Ahlqvist (1).

(1) *Klinisk mikrobiologi, Karolinska Universitetssjukhuset*, (2) *Institutionen för Mikrobiologi, Tumör- och Cellbiologi, Karolinska Institutet*

Bakgrund: Quantiferon-TB Gold Plus (Qiagen) är en Interferon-Gamma-Release-Assay (IGRA) i vilken interferon-gamma detekteras med enzymkopplad immunadsorberande analys (EIA). Interferon gamma frisätts från T-lymfocyter som stimulerats av TB-specifika antigen vilket ger ett mått på cellmedierad immunitet mot *Mycobacterium tuberculosis*. Chemiluminescent immunoassay (CLIA) är en alternativ metod för detektion av interferon-gamma där emission av ljus detekteras istället för absorbans. Vi har utfört en verifiering av Quantiferon-TB Gold Plus med CLIA på plattformen Liaison XL (Diasorin).

Material & Metod: Kliniska prover analyserades först med EIA (Quantiferon-TB Gold Plus, Qiagen) på Freedom Evolyzer (TECAN) och direkt efter med CLIA (Liaison Quantiferon-TB Gold Plus) på Liaison XL (Diasorin). Proverna valdes utifrån resultat från EIA enligt följande: 51st positiva (≥ 1 IU/mL), 32 st negativa ($\leq 0,20$ IU/mL), 21 st gränsvärdesresultat (mellan 0,21 och 0,99 IU/mL), samt 8 st indeterminanta. Reproducerbarhet testades genom att poolat material från kliniska prov analyseras för TB1, TB2 och nil 4 gånger/dag i 5 dagar. 7 st panelprover från UK NEQAS kvalitetspanel för IGRA analyserades först med EIA och därefter med CLIA.

Resultat: Samstämmigheten för CLIA med EIA var 89,42% för sammantagen tolkning, samt 88,46% och 88,46% för TB1 respektive TB2. Samstämmigheten för CLIA med EIA för positiva och negativa resultat var 100 % (51/51 respektive 32/32). Av 21 st gränsvärdesresultat med EIA blev 10 st gränsvärden även med CLIA. Av resterande 11 st gränsvärdesresultat med EIA blev 2 st positiva och 9 st negativa med CLIA. För reproducerbarhet uppvisade CLIA för TB1-nil medelvärde 1,26 IU/mL, SD 0,13 samt CV(%) 10,59, och för TB2-nil medelvärde 1,15 IU/mL, SD 0,14 samt CV(%) 12,05. Samtliga resultat från analys av panelprover med EIA och CLIA överensstämde med förväntat resultat enligt UK NEQAS (3/3 positiva, 4/4 negativa).

Slutsats: Verifieringen med kliniska prov samt kvalitetspanelprover visar en god samstämmighet mellan CLIA och EIA, där skillnaderna endast utgjordes av resultat inom gränsvärdesintervallet.

Korrespondens: sandra.brantestig@sll.se

[Tillbaka till indestabell](#)

(MI-P226) Kan gallöslighetstest användas för att skilja *Streptococcus pneumoniae* från *Streptococcus pseudopneumoniae*?

Rebecca Johansson Andersson, Carina Lindqvist Ivarsson, Frida Nilsson, Sofia Somajo, Oskar Ekelund.

Klinisk Mikrobiologi, Region Kronoberg, Karlskrona

För artidentifiering av *Streptococcus pneumoniae* används ofta upplärningszon kring optochin-disk, trots att gallöslighetstest (tillsats av Na-deoxycholat) anses vara gold standard. Sedan MALDI-TOF tagit över marknaden för artbestämningar har denna metod utvärderats och funnits ha tveksam specificitet. Med MALDI-TOF har vissa kliniska isolat med optochinupplärning motsvarande *S. pneumoniae* artbestämts såsom *Streptococcus pseudopneumoniae*. Då *S.pseudopneumoniae* har en omtvistad klinisk relevans är det av intresse att kunna särskilja den från patogenen *S. pneumoniae*. Syftet med studien var att optimera gallöslighetstest med målet att skapa en snabb, säker och lättolkad metod för att diskriminera mellan *S. pneumoniae* och *S.pseudopneumoniae* samt övriga α -streptokocker tillhörande *mitis*-gruppen. Totalt 50 isolat, tidigare artbestämda till *S. pneumoniae* med optochin-disk, analyserades med MALDI-TOF och optimerat gallöslighetstest. I det optimerade gallöslighetstestet tillsattes Na-deoxycholat till en bakteriesuspension med turbiditet om 2.0 McFarland (McF). Total upplärning (≤ 0.01 McF) efter 30 minuter sågs hos optochinpositiva isolat som med MALDI-TOF identifierats till *S. pneumoniae* (4 högsta scorevärden). I de fall MALDI-TOF angett *S.pseudopneumoniae* som tänkbar art sjönk turbiditeten i genomsnitt till 0.23 McF, medan optochinnegativa α -streptokockers turbiditet var i stort sett oförändrad. Då tänkbara *S.pseudopneumoniae*-isolat åter testades för optochinkänslighet erhöles zoner mellan 12 och 14 mm, isolaten var således svåra att separera från *S. pneumoniae*. Utvärderingen visar att användandet av optochin för artidentifiering av *S. pneumoniae* troligen ofta medfört att *S.pseudopneumoniae* felaktigt diagnostiserats som *S. pneumoniae*, men att den modifierade gallöslighetsmetoden är lovande för att vidare studera komplexiteten i artidentifieringen av *S. pneumoniae* och *S.pseudopneumoniae*. Ytterligare studier för fastställande av den kliniska relevansen av *S.pseudopneumoniae* vore önskvärt.

Korrespondens: carina.lindqvist-ivarsson@kronoberg.se

[Tillbaka till indextabell](#)

(MI-P227) Metagenomic sequencing for pathogen detection in clinical samples

Maria Lind Karlberg, Erik Alm, Nina Lagerqvist, Reza Advani, Gabriel Östlund, Olov Svartström, Niklas Edner, Anna Risberg and Karin Tegmark-Wisell.

Public Health Agency of Sweden, Dept of Microbiology, Solna, Sweden.

Diagnosis of infectious disease usually requires a specific selection of analysis and molecular methods are moreover sensitive to mutations. Metagenomic sequencing has the potential to unbiased detect a spectrum of microbes. Clinical metagenomic sequencing provides unique opportunities to diagnose infectious diseases but is also connected with many challenges. We have developed and are routinely using since 2017 a laboratory- and bioinformatic pipeline to identify otherwise undiagnosed pathogens in patients within 30h.

Methods: Total nucleic acids are extracted with MagLEAD (PSS). The library constructions are performed automatically by the AB Library builder system (Thermo Fisher Scientific) with associated kits. Template preparation and sequencing are performed by the Ion Chef and Ion S5 XL instrument (Thermo Fisher Scientific), respectively. Raw reads are filtered to eliminate low-complexity reads using a DUST filter. Remaining reads are classified using the software Kraken, towards a database of all RefSeq genomes for pathogens as well as the human genome. Reads that are not classified by Kraken are BLASTed towards the viral genomes, in order to detect more divergent sequences. Putative positive hits are validated by mapping reads to the reference genome and performing BLAST searches.

Results and Discussion: By using metagenomic sequencing we identify otherwise undiagnosed pathogens in clinical samples. Our metagenomics-based strategy uncovers mutated or known but unexpected pathogens as well as microbes previously unknown as pathogens in clinical samples. The results demand a close contact with the referring clinician for interpretation. Systematic evaluations of new diagnostic tools, will provide knowledge about their possibilities and limitations.

Korrespondens: maria.lind.karlberg@folkhalsomyndigheten.se

[Tillbaka till indextabell](#)

(MI-P228) GENSAM - Gemensam nationell hantering av sekvenseringsdata inom klinisk mikrobiologi

Carlo Berg (1), Olov Svartström (1), Anna Risberg (1), Karin Tegmark Wisell (1).
(1) *Folkhälsomyndigheten*

Infektionssjukdomar har stor inverkan på människors hälsa. Bekämpning och förebyggande står i relation till vår förmåga till mikrobiell karaktärisering, något som de senaste åren har accelererats av storskalig sekvenseringsteknik, next generation sequencing (NGS). Med NGS-instrument erhålls hela eller stora delar av organismens arvsmassa, genomet, och analysen av de stora mängder digital information som genereras har utvecklats genom disciplinen bioinformatik. Folkhälsomyndigheten (FOHM) har sedan flera år tillbaka haft NGS och bioinformatik etablerad för de nationella övervakningsprogrammen där mikroorganismer isolerade från lokala kliniska mikrobiologiska laboratorier skickas till FOHM. I synnerhet har tekniken haft stor betydelse vid utbrotsanalyser och antibiotikaresistensövervakning. I takt med att NGS och bioinformatik blir mer tillgänglig vad gäller kostnad, kapacitet, snabbhet och kompetens så har tekniken etablerats vid större kliniska mikrobiologiska laboratorier i Sverige, och kommer med all sannolikhet bli mer etablerad under de kommande åren. Detta öppnar stora möjligheter till förbättringar men kräver en gemensam standard för tolkning och en digitaliserad omställning för datadelning. Projektet GENSAM har till syfte att bli en plattform och en nationell databas för digital delning av mikrobiologisk sekvenseringsdata, sätta standarder för kvalitetssäkring och bistå med stöd för bioinformatiska analyser, definiera format och innehåll av metadata samt sprida kompetens och kunskap genom samverkan. FOHM tar ett helhetsansvar och säkerställer långsiktig förvaltning i linje med myndighetens uppdrag, att förbättra hälsa genom att förebygga smittspridning och antibiotikaresistens. GENSAM fick finansiering från Vinnova:s utlysning "Utmaningsdriven innovation" (steg-1) och befinner sig i initieringsfasen där fördjupande analyser om behov och risker samt utredning av tekniska och juridiska aspekter ingår.

Korrespondens: carlo.berg@folkalsomyndigheten.se

[Tillbaka till indextabell](#)

(MI-P229) Den nya kompetensutvecklingsmetoden på Klinisk mikrobiologi i Linköping.

Martina Nylander (1), Linnéa Jonsson (2).

(1, 2) *Klinisk mikrobiologi, Universitetssjukhuset, Linköping, Region Östergötland*

Bakgrund: Under många år har kompetensplaneringen och dess utveckling inte varit optimal på odlingsplattformen vid Klinisk mikrobiologi, Linköping. Efter ett fördjupningsarbete i "odlingens" kompetensutveckling och schemaläggning i kombination med ett LEAN-arbete så finns idag ett material med förbättringsförslag, med farhågor, med processer som inte fungerat och processer som fungerat under många år. "Flaskhalsarna" i kompetensutvecklingen/schemaläggningen har även definierats. Materialet visar på plattformens styrkor och svagheter, flaskhalsar och problematik när det gäller upplärningar, kompetensutveckling, både bredd och fördjupningar samt för schemaläggningen. För att gå vidare med materialet tillverkar nu personalsamordnare och enhetschef riktlinjer tillsammans för att från och med nu och framåt underlätta kompetensutvecklingen och för att bibehålla nuvarande struktur. I ett större perspektiv och framtid så måste verksamheten börja arbeta med "rätt använd kompetens" (RAK). Med RAK menas att verksamheten ska utgå ifrån att använda rätt kompetens till rätt uppdrag och sysslor. Med RAK ska utbildning, erfarenhet samt övriga egenskaper tas hänsyn till vid uppdragsgivning, anställning, uppdragsväxling och liknande. Under en period framöver kommer behovet av ex. BMA/biologer att öka drastiskt. Samhällsgruppen som är + 80 år kommer att öka samtidigt som personer i arbetsför ålder inte alls ökar i samma takt. Detta innebär att RAK och kompetensplanering är viktigare än någonsin. "Gör du rätt sak"? "Gör du någonting som någon annan med annan kompetensbakgrund kan göra?".

Syftet: Syftet med att skapa tydliga riktlinjer är för att skapa struktur och rutiner för de som planerar odlingsplattformens kompetensutveckling och för att göra denna process icke-personberoende, samt för att hitta en hållbar och smart kompetensutveckling för varje enskild individ såsom för verksamheten.

Mål: · Att de individuella planerna och det gedigna insamlade materialet ska fortgå med rollerna enhetschef och personalsamordnare. · Att uppnå en god och hållbar kompetensutveckling för personalen på odlingsplattformen. · Samtliga dokument ska vara enkla, tydliga och lättförstådda. · Det ska tydligt framgå vem som ansvarar för vilka dokument. · Skapa överblick på både personalens och enhetens kompetensbehov/planering. · Minska den stress och sårbarhet som uppstår vid sjukdom, semester, pensionsavgångar, föräldraledighet, uppsägningar mm.

Resultat: Material har tagits fram för att skapa struktur i kompetensutvecklingen för både kortsiktig samt för långsiktig planering för varje enskild individ. Material som ger transparens i verksamheten. Material som beskriver karriärstegen. Material som beskriver det egna lärandet i de olika forumen/möten som finns i verksamheten. Med den goda möteskontinuiteten och planering har alla målen hittills uppnåtts.

Korrespondens: martina.nylander@regionostergotland.se

[Tillbaka till indextabell](#)

(MI-P230) Stort intresse för en nationellt reglerad specialistutbildning hos yrkesverksamma biomedicinska analytiker och biomedicinska analytikerstudenter.

Marcus Rehnberg (1), Gabriella Lillsunde Larsson (2) Maysae Quttineh (1).

(1)IBL (Swedish Institute of Biomedical Laboratory Science), SE-11426 Stockholm, Sweden (2)School of Health Sciences, Örebro University, Örebro, Sweden

Det råder brist på biomedicinska analytiker i Sverige, och stora pensionsavgångar väntas inom de närmaste åren. Enligt Socialstyrelsens rapport "Planeringsstödet 2019 - Bedömning av tillgång och efterfrågan på legitimerad personal i hälso- och sjukvård samt tandvård" rapporterar 17 av 21 landsting att det råder brist på biomedicinska analytiker. Den största gruppen biomedicinska analytiker befinner sig enligt samma rapport i åldersspannet 60-64 år. Samtidigt examineras inte tillräckligt många från biomedicinsk analytikerprogrammen för att täcka upp för pensionsavgångarna. Antalet platser på utbildningarna har ökat, men många väljer att avbryta utbildningen. Endast 58% av alla som påbörjade en biomedicinsk analytikerutbildning läsåret 2010/2011 tog sin examen enligt en rapport från Universitetskanslerämbetet. Under 2018 genomförde Institutet för biomedicinsk laboratorievetenskap (IBL) två enkäter: en bland studenter på biomedicinsk analytikerprogrammet och en bland yrkesverksamma medlemmar i IBL. Enkäterna skickades ut via e-post till de e-postadresser som fanns i IBL:s medlemssystem och svaren samlades in med hjälp av onlineenkätverket webbenkater.com. Studentenkäten skickades ut till 483 e-postadresser (vid tillfället fanns 544 studerandemedlemmar i medlemsregistret) i februari 2018. Vi uppmanade studenterna till att sprida enkäten bland sina studiekamrater. Enkäten fick 268 svar fördelade på studenter på termin 2, 4 och 6. Enkäten till yrkesverksamma medlemmar skickades ut till 2083 e-postadresser (2541) i september 2018 och fick 921 svar. "Lätt att få jobb" är den vanligaste anledningen till att man valt biomedicinsk analytikerutbildningen, följt av "stimulerande arbetsuppgifter" och "bra grund för vidare studier/forskning". "Bra karriärmöjligheter" kommer först på fjärde på fjärde plats. Intresset för vidareutbildning på avancerad nivå är högst bland studenter i början av utbildningen. På termin två svarar 19% att de tänker läsa en vidareutbildning "direkt efter examen" och 59% svarar "ja, men inte direkt". På termin sex svarar 1% "direkt efter examen" och 53% "ja, men inte direkt". Över hälften av studenterna oavsett termin svarar "ja" på frågan om de skulle gå en reglerad specialistutbildning för biomedicinska analytiker om det fanns. Av resterande svarar de flesta "kanske" och endast enstaka svarar "nej". Bland yrkesverksamma svarar 53% att de skulle välja att gå en reglerad specialistutbildning om det fanns, 26% svarar "kanske" medan 21% svarar "nej". 93% av enkättagarna tycker att det behövs en reglerad specialistutbildning. Av deltagare som svarat att de arbetar som chefer (n=52) anser 90% att det behövs en reglerad specialistutbildning. 68% svarar att det inte finns tydliga karriärvägar i form av till exempel karriärstegar på arbetsplatsen. För att säkra kompetensförsörjningen i Sveriges behövs tydliga karriärmöjligheter för biomedicinska analytiker. Bristen utgör en fara för patientsäkerheten då 70 % av diagnoserna i vården ställs med hjälp av diagnostiskt resultat.

Korrespondens: maysae.quttineh@rjl.se

[Tillbaka till indextabell](#)

(MI-P231) Unbiased RNA sequencing of HPV negative Cervical Cancers

Camilla Lagheden (1), K. Miriam Elfström (1,2), Jiayao Lei (3), Laila Sara Arroyo Mühr (1), Carina Eklund (1), Sara Nordqvist Kleppe (1), Bengt Andrae (3,4), Pär Sparén (3), Karin Sundström (1,5) and Joakim Dillner (1,5).

(1) Department of Laboratory Medicine, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden (2) Regional Cancer Center Stockholm-Gotland, Stockholm, Sweden (3) Department of Medical Epidemiology and Biostatistics, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden (4) Center for Research and Development, Uppsala University/Region of Gävleborg, Sweden (5) Karolinska University Laboratory, Karolinska University Hospital, Stockholm, Sweden

Background: High risk human papillomavirus (hrHPV) infection is established as the major cause of invasive cervical cancer (ICC), 97% of CIN3 was hr HPV positive (Hortlund et al.2016). Yet there seems to be a subset of cervical cancers where hrHPV is not readily detectable in the tumor tissue by standard PCR methods. Women with hrHPV-positive cervical tumors had a substantially better prognosis than women with hrHPV-negative tumors, independently of already established clinically relevant factors (Lei et al. 2018). This raises the question whether L1 negative tumors are biologically different from L1 positive tumors. In a previous study, we identified and requested FFPE blocks from all cervical cancers in Sweden during 2002 to 2011 (n=4254). Out of the 2850 cancer cases with adequate HPV typing results, there were 394/2850 (13,8%) cases that were HPV negative after being tested for HPV DNA with both PCR with MGP primers targeting L1 gene and real-time PCR with primers targeting the E7/E6 gene (HPV 16/18) (Lagheden et al 2018). Performing unbiased testing (not based on PCR or other methods requiring prior knowledge of sequences) might result in detecting actively transcribed viruses in “apparently HPV-negative” cancer cases.

Method: All cases were extracted with a xylene-free method and HPV negative cases were re-reviewed to confirm cervical cancer in the material. Libraries were done using SMARTer pico kit (Takara, US), without amplification, validated and normalized to 2 nM and pooled before sequencing. Sequencing was performed using two lanes 2x150 bp, flowcell S1, NovaSeq 6000 system (Illumina, US). 150 bp long quality reads were screened against the human reference genome hg19 and human reads were filtered from the data set. Fastq files for each sample, were aligned to all HPV types reference clones sequences published in the website of the International Human Papillomavirus Center (hpvcenter.se, accessed 2018-05-28).

Results: In total 63 samples were sequenced, 30 HPV positive and 33 HPV negative. Sequencing confirms the result from Luminex (PCR based assay), one case became positive to another type, but another 45% (15/33) cases becomes positive in NovaSeq, the most common type was HPV 33 (n=6). When looking at the sequences 9 cases didn't have any reads in the primer/probe sequences, 6 cases should have been found and one case was positive for a HPV type we did not test for.

Conclusions:All though etiologically cancers were the same, something happens with HPV being undetectable at a late stage of the oncogenic process. Unbiased sequencing might be a biomarker for women with cervical cancer.

Korrespondens: camilla.lagheden@ki.se

[Tillbaka till indextabell](#)

(MI-P232) Framgångsrik behandling av mukormykos med radikal kirurgi samt lokal och systemisk antimykotika

Åsa Gylfe (1), Tobias Jakobsson (2), Angeliki Vourtsi (3), Gunilla Rask (4), Maiken Cavling Arendrup (5).

(1) Institutionen för Klinisk Mikrobiologi, Umeå Universitet, Umeå. (2) Infektionskliniken, Norrlands Universitetssjukhus, Umeå (3) Hematologsektionen, Cancercentrum, Norrlands Universitetssjukhus, Umeå (4) Klinisk Patologi och Cytologi, Norrlands Universitetssjukhus, Umeå (5) Statens Serum Institut, och Universitetssjukhuset Rigshospitalet, Köpenhamn.

En man i 70-årsåldern med myelodysplastiskt syndrom och långvarig neutropeni utvecklade ett nekrotiskt sår i pannan och feber. Nekrosen progredierade från 4 till 35 mm på två dagar och en sårodling tagen i samband med inläggning visade växt av *Rhizopus microsporus*. Direktmikroskopi av sårskrap påvisade breda, sparsamt septerade svamphyfer och verifierade diagnosen mukormykos. Patienten som stod på pozakonazolprofylax sattes in på intravenöst liposomalt amfotericin B (LAmB) 5 mg/kg och posakonazoldosen höjdes till 300 mg x1. En vecka efter insatt svampbehandling exciderades det nekrotiska området med marginal och preparatet skickades färskt till patologen med frågeställning radikal excision. Patolog och klinisk mikrobiolog tog tillsammans emot preparatet för steril utskärning av bitar till direktmikroskopi, svampodling och histopatologi. Direktmikroskopi utfördes omgående med blanchophorfärgning och utföll negativt från de perifera områdena och positivt från ett område nära det nekrotiska såret. *R. microsporus* växte endast fram från området nära nekrosen. Histopatologi konfirmerade att mucormukosen var radikalt borttagen och radiologiskt fanns inga tecken till djupare spridning till ben eller bihålor. Efter avslutad operation sköljdes sårhålan med 200 mg/L LAmB och fylldes med kompresser indränkta i lösningen. Såret sköljdes dagligen med utspädd LAmB och fylldes med nya indränkta kompresser. Dagliga odlingar togs från såret den första veckan och utföll negativa. Tre veckor efter operationen täcktes såret med delhudstransplantat. Systemisk behandling med LamB pågick i sammanlagt fem veckor och posakonazol i 3 månader. Patienten var neutropen under hela förloppet och behandlades även med bredspektrumantibiotika. Såret läkte fullständigt utan tecken till recidiv. Mucormykos orsakas av snabbväxande omgivningsmögel och drabbar främst neutropena patienter. Svampen växer invasivt i blodkärl och producerar toxiner som orsakar nekros. Svampläkemedel har därför svårt att nå tillräckliga koncentrationer i angripen vävnad och snabb, radikal kirurgi utgör därför den viktigaste delen av behandlingen. Mikrobiolog och patolog kan som vi beskriver samarbeta för att avgöra radikalitet. Lokalbehandling med amfotericin B efter kirurgi är en teoretiskt tilltalande metod som i enstaka fallbeskrivningar gett gott resultat.

Korrespondens: asa.gylfe@umu.se

[Tillbaka till indextabell](#)

(MI-P233) Isolation of a novel variant of neurotropic JC polyomavirus from a brain biopsy

Anders Bergqvist, Mahesh Anagandula, Bo Albinsson and Kåre Bondeson.
Clinical Microbiology and Infection Control, Uppsala University Hospital

Progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) is a debilitating and frequently fatal central nervous system (CNS) demyelinating disease caused by JC polyomavirus (JCV), for which there is currently no effective treatment. Lytic infection of oligodendrocytes in the brain leads to their eventual destruction and progressive demyelination, resulting in multiple foci of lesions in the white matter of the brain. Whereas JC infection typically establishes a persistent, asymptomatic infection in the kidney, rearrangement of the viral genome can result in a neurotropic virus that in an immunocompromised patient can result in viral encephalitis. A patient with follicular lymphoma showing neurologic symptoms suggesting PML were analyzed for JCV DNA. Whereas cerebrospinal fluid was negative, high levels of JCV DNA could be isolated from a brain biopsy. Characterization of the viral genome unraveled a novel variant of JC virus that displayed the rearrangements in viral genome typically found in JC-associated PML. Subsequent analysis of cerebrospinal fluid remained negative for JCV DNA. Our result indicates that JC virus can be actively replicating in the brain in the absence of detectable levels of JCV DNA in conventional analysis and that the sensitivity of JCV DNA in cerebrospinal fluid is a critical factor that warrants concern.

Korrespondens: anders.bergqvist@akademiska.se

[Tillbaka till indextabell](#)