

Mikrobiologiska abstracts till infektionsveckan/mikrobiologiskt vårmöte i Karlskrona 2017

(MI-O1) Xylenfri DNA extraktion av FFPE block: utvärdering och implementering

Camilla Lagheden (1), Carina Eklund (1), Joakim Dillner (1).
(1) Laboratoriemedicin, Karolinska Institutet, Stockholm

Bakgrund: Formalin-fixerade paraffin-inbäddade (FFPE) biopsier har arkiverats i patologarkiv i decennier. Från arkiverade block kan DNA extraheras och användas för molekylärbiologiska analyser flera år efter diagnos, exempelvis HPV-genotypning vid livmoderhalscancer. Tidigare ”golden standard” extraktionsmetod med xylen är hälsofarlig för både personalen och miljön. När det finns fullgoda alternativ till användning av hälsofarliga kemikalier skall dessa användas. Xylenextraktion är dessutom mer tidskrävande och efterlämnar mer hälsofarligt avfall. Vi validerade en xylenfri metod framtagen på Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Atlanta, Georgia, USA. (Lagheden et al. J Clin Virol. 2016).

Metod: I valideringsstudien snittades samma block för extraktion med båda metoderna på Histocenter AB i Göteborg. Extrakten analyserades sedan parallellt, mot samma kontroller och standardkurvor, i alla analyser. Snittat FFPE material extraherades med 1) Qiagen Blood and Tissue kit enligt företagets beskrivning med förändringen ett extra värmesteg, 120°C i 20 min och proteinas K inkubering i 65°C över natt. Proven eluerades i 100 µL AE-buffert. Total hands-on tid ungefär 2 h för 24 prov. 2) Inkubering med xylen i 50°C, 30 minuter, 10 minuter centrifugering x2 följt av tvätt med etanol, 10 minuter centrifugering x2. Lufttorka pellet, inkubering i digestion buffert med proteinas K i 37°C över natt. Dag 2 kokas proven i 100°C i 10 minuter för inaktivering av proteinas K. Total hands-on tid ungefär 4 h för 24 prov.

Resultat: Mängden DNA har visat sig vara dubbelt så hög för biopsier extraherade med värmemetoden jämfört med xylen, medelvärde för β -globin var 5525 kopior för värmemetoden jämfört med 2554 kopior för xylenextraherat. Medelvärde för HPV16 följde samma trend, 104273 kopior värmeextraherat vs 50133 kopior för xylenextraherat. Värmeextraktionen gav ett bättre resultat även vid HPV genotypning med MGP PCR och Luminex då 10 % av de xylenextraherade proven behövde spädas för ett positivt resultat mot 0 av de värmeextraherade. Dessutom ger värmemetoden ett renare utbyte, mindre inhibitorer, vilket leder till mindre efterarbete, spädning. Vi har efter utvärderingen fasat ut xylenextraktion helt. Bara det senaste året extraherades >2000 tumörbiopsier med värme metoden.

Slutsats: En xylenfri och stabil extraktions metod för FFPE biopsier befanns vara mer stabil, effektiv och mindre hälsofarlig för både personal och miljö.

Utvalt som fritt föredrag, onsdagen den 17/5 kl 08.30-08.40

(MI-02) The effect of dietary fibres on antibiotic resistant bacteria in gut microbiota of older adults reporting GI symptoms

Jana Jass (1), Annica Kinnunen (1), Frida Fart (3), John-Peter Ganda Mall (2,3), Robert J Brummer (2), Carl Mårten Lindqvist (2), Ida Schoultz (3).

(1) School of Science and Technology, The Life Science Centre, Örebro University (2) School of Medicine and Health, Nutrition Gut Brain Interactions Research Centre, Örebro University (3) School of Medicine and Health, Nutrition and Physical Activity Research Centre, Older Persons Health and Living conditions, Örebro University

Despite the substantial number of older adults suffering from gastrointestinal (GI) symptoms, little is known regarding the mechanisms behind these problems. Furthermore, therapeutic strategies directed towards age-associated gut problems do not currently exist. We conducted a randomised, placebo-controlled trial (RCT) to elucidate if dietary prebiotic fibres can modulate the level of antibiotic resistance markers in the gut microbiota and decrease GI symptoms. Sixty older adults (≥ 65 years) representing the general Swedish population were enrolled in the RCT. The subjects were divided into three intervention groups and randomized to a 6-week daily supplement of wheat-derived fibre, oat-derived fibre, or placebo. Twenty-one study participants were identified to suffer from moderate constipation and/or diarrhoea as assessed by a score ≥ 3 on the questionnaire based Gastrointestinal Symptoms Rating Scale (GSRS). Of these, 13 subjects were further investigated for the presence of antibiotic resistance markers. The primary outcome measure was set to the changes of symptoms as judged by GSRS. Stool samples were collected from the participant and instantly frozen at -20°C and transported to the lab within one week until DNA extraction. The presence of antibiotic resistance markers was evaluated in participants before and after the intervention using the Qiagen microbial DNA qPCR array for antibiotic resistance genes. Intervention with wheat-derived prebiotic fibres ($n=4$) resulted in either equal or lower numbers of antibiotic resistance markers, while the placebo ($n=5$) or oat-derived prebiotic fibers ($n=4$) supplement resulted in equal or higher numbers of antibiotic resistance genes. Differences between groups were significant (Fisher's exact test, $p=0.03$). Furthermore, we observed that wheat-derived prebiotic fibres seem to decrease constipation and diarrhoea among older adults, although the differences between baseline and intervention were not statistically significant. In conclusion, our results suggest that both GI symptoms among older adults and the presence of increased antibiotic resistance markers may be positively influenced by prebiotic fibres and this may be an effective therapeutic strategy to improve overall gut health.

Utvalt som fritt föredrag, onsdagen den 17/5 kl 08.45-08.55

(MI-O3) Antibiotic resistant, “promiscuous”, and sensitive *Escherichia coli* types in our microbiota

Roland Möllby(1), Inger Kühn(1), Young-Keun Kwak(1), Patricia Colque-Navarro(1), Ingemar Ernberg(2).

(1)Department of Microbiology, Tumor and Cell Biology, Karolinska Institutet, SE-171 77 Stockholm, Sweden (2)Fibflo group, Department of Microbiology, Tumor and Cell Biology, Karolinska Institutet, SE-171 77 Stockholm, Sweden

Aims. The aims of the study were to determine the diversity and the stability of the indicator bacterium *E. coli* in adult individuals during 7 weeks, and to find out whether antibiotic resistance seemed to be present in certain clones in the flora, or whether it seemed to be randomly distributed among different clones, indicating that promiscuous resistance genes are common among intestinal *E. coli*.

Materials and methods. One hundred and fifteen faecal samples from 20 healthy adult individuals, without recent antibiotic consumption, were studied. From each individual, samples were collected weekly seven times. When available, eight *E. coli* colonies were picked from each sample and each colony was simultaneously phenotyped by biochemical fingerprinting (PhP typing)* and resistance determination to 10 different antibiotics (AREB method)*. In total, 841 confirmed *E. coli* isolates were investigated (average 42 per individual) with respect to their phenotypes and antibiotic resistance profiles.

Results. An average of 4.1 PhP types was found in each individual. The same type was usually found in several samples from an individual, but about 50 % of the individuals changed their dominating *E. coli* strain at least once during the study. Resistance to at least one antibiotic was determined in 54 % of the isolates, and to two or more antibiotics in 41 % of the isolates. One PhP type usually dominated the flora in each sample. One third of the PhP-types showed heterogeneous resistance profiles. Analysis of all isolates together revealed that four PhP types were found in several individuals. The most common type was found in 13 % of all isolates and in eight individuals, and was very seldom associated with any resistance (only 9/106 isolates), whereas the second most common type, found in 4 % of all isolates and in four individuals, was associated with resistance in 42/44 isolates.

Conclusions. Resistance to antibiotics was common in the *E. coli* studied. A third of the isolates seemed to belong to PhP types with a constant resistance pattern (Constant Types, CT), while another third belonged to PhP types showing very varying or “promiscuous” resistance patterns (Promiscuous Types, PT), also in the same individual, which could be due to transfer of resistance genes in the faecal flora. Furthermore, absence of resistance also seemed to be associated with certain PhP types (Sensitive Types, ST) containing the last third of the *E. coli* isolates. This last finding could indicate that certain clonal groups of *E. coli* are more “protected” than others against picking up antibiotic resistance genes. *See poster “Antimicrobial resistance among *Escherichia coli* in wastewater seem to reflect resistance among *Escherichia coli* in the society” by Kwak et al.

Utvalt som fritt föredrag, onsdagen den 17/5 kl 09.00-09.10

(MI-O4) Regulation of CXCL8 signaling in epithelial cells by probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG

Annica Kinnunen , Jana Jass

School of Science and Technology, The Life Science Center, Örebro University

CXCL8 is best known as a neutrophil chemoattractant and is primarily produced by different leukocytes. While some epithelial cells also produce CXCL8, its role in the epithelium is essentially unknown. While the expression of CXCR1 and CXCR2, the receptors for CXCL8 have also been observed in the epithelium, the signaling is not fully understood. Studies have shown that CXCL8 is an important growth factor for epithelial cell survival, protection against cell damage and may also promote mucosal integrity. While, CXCL8 is important for detection and elimination of pathogens, dysregulation of CXCL8 has been associated with disease. Enhanced CXCL8 secretion contributes to the pathophysiology of certain inflammatory diseases such as inflammatory bowel diseases. Certain probiotics have been proposed to modulate the immune response in humans. Probiotics are “live microorganisms which when administered in adequate amounts confer a health benefit to the host” (FAO/WHO, 2001). *Lactobacillus rhamnosus* GG is one of the most studied probiotic strains and it has been shown to modulate immune responses such as cytokine secretion. Our study aims to determine if *L. rhamnosus* GG modulates CXCL8 production and signaling in different types of epithelial cells in culture. Our results suggest that *L. rhamnosus* GG has different effects on CXCL8 production in different epithelial cell types. *L. rhamnosus* GG reduces CXCL8 production induced by heat killed *Escherichia coli* in intestinal and urothelial cells. However, *L. rhamnosus* GG induces CXCL8 production on its own and synergistically enhances the CXCL8 production induced by heat killed *E. coli* in vaginal epithelial cells. The variation in CXCL8 production may reflect a difference in the role of CXCL 8 in different epithelial surfaces. Our data also indicate that *L. rhamnosus* GG may regulate CXCL8 signaling by altering expression of the receptors. The physiological consequences of CXCL8 regulation in epithelial cells by probiotic *L. rhamnosus* remains to be determined.

Utvalt som fritt föredrag, onsdagen den 17/5 kl 09.15-09.25

(MI-05) Bakteriemi med *Actinotignum* i Skåne – en retrospektiv studie med 57 fall

Erik Senneby (1)(2), Hanne Pedersen (1), Magnus Rasmussen (1).

(1) Avdelningen för infektionsmedicin, Institutionen för Kliniska Vetenskaper, Lunds universitet.

(2) Medicinsk Service, Labmedicin, Klinisk mikrobiologi, Lund

Bakgrund *Actinotignum* (tidigare *Actinobaculum*) är ett genus bestående av tre arter (*A. schaalii*, *A. sanguinis*, *A. urinale*). Dessa är fakultativt anaeroba Grampositiva stavar som växer bäst anaerobt eller i CO₂. *A. schaalii* kan orsaka urinvägsinfektioner och bakteriemi men antalet fall av *Actinotignum*-infektioner som tidigare har rapporterats har varit få, troligtvis beroende på svårigheter med artidentifikation innan MALDI-TOF MS introducerades. Syftet med den här studien var att beskriva incidens, klinisk presentation och prognos vid *Actinotignum*-bakteriemi. **Material och Metod** *Actinotignum*-isolat i blododlingar mellan 2012-01-01 och 2016-03-31 identifierades retrospektivt i databasen på Klinisk Mikrobiologi, Lund, som tar emot prover från sjukvården i hela Skåne. MALDI-TOF MS användes för primär artidentifikation. Sekvensering av 16S rRNA-genen utfördes då MALDI-TOF MS gav poäng <2.0. För bestämning av MIC-värden användes Etest på MH-F-plattor som inkuberades anaerobt 24-48 timmar. Patientjournaler granskades och variabler såsom ålder, underliggande sjukdomar, symtom, behandling och utfall noterades. Fishers exakta test och Mann-Whitney U-test användes för statistiska beräkningar.

Resultat Totalt identifierades 58 episoder med *Actinotignum*-bakteriemi (*A. schaalii* n=53, *A. sanguinis* n=1, *A. urinale* n=2, *Actinotignum* species n=3), vilket motsvarar en incidens på 11 fall per miljon invånare. Tjugonio patienter (51 %) hade *Actinotignum* i renkultur i blodet. Hos de patienter med polymikrobiell bakteriemi var fynd av *Aerococcus* species vanligast (n=9). Växt av *A. schaalii* fanns endast i en urinodling. Alla isolat som undersöktes (n=54) hade låga MIC-värden för benzylpenicillin, cefotaxim och vankomycin. MIC-värden för klindamycin, erytromycin och gentamicin varierade, medan höga MIC-värden noterades för trimetoprim och ciprofloxacin. Medianåldern var 82 år och 72 % var män. En majoritet av patienterna (61 %) hade urogenitala sjukdomar, där den vanligaste var benign prostatahyperplasi (n=16). Det vanligaste symtomet var feber (61 %). Trettiosex patienter (63 %) bedömdes ha urinvägsfokus och 31 patienter (54 %) utvecklade svår sepsis. Nästan alla patienter (93 %) erhöll empirisk behandling med antibiotika för vilka *Actinotignum*-isolaten bedömdes vara känsliga. Fem patienter vårdades på IVA och 9 patienter (16 %) avled under vårdförloppet.

Konklusion Våra resultat visar att bakteriemi med *Actinotignum* är vanligare än vad som tidigare rapporterats och att de patienter som drabbas ofta är äldre män med underliggande urologiska tillstånd. Många patienter utvecklar svår sepsis med en relativt hög dödlighet. Urinvägsfokus bör misstänkas trots att *Actinotignum* sällan rutinmässigt växer i urinodlingar. Troligtvis är betalaktam-antibiotika rimligt som behandling.

Utvalt som fritt föredrag, onsdagen den 17/5 kl 09.30-09.40

(MI-06) Hög förekomst av *Dientamoeba fragilis* hos friska tyder på låg patogenicitet

Emma Löfström, Anna Eringfält, Peter Nilsson, Arne Kötz.
Klinisk Mikrobiologi och Vårdhygien Region Halland

Bakgrund: *Dientamoeba fragilis* är en protozo vars livscykel är okänd och vars patogena betydelse inte är klarlagd. Tidigare studier visar stor variation i prevalens. Få studier har undersökt förekomsten av *D. fragilis* hos friska.

Metod: Under tidsperioden mars 2015- mars 2016 tillfrågades 2000 slumpmässigt utvalda Hallänningar mellan 1-75 år om deltagande i studie där förekomsten av *D. fragilis* i faeces hos friska skulle undersökas. Totalt kunde 315 personer inkluderas i gruppen Friska och ålder, kön, kommun, månad, enkätsvar och resultat av *D. fragilis*-PCR noterades. Under samma tidsperiod, granskades alla faeces-prover som kom till Mikrobiologen. Patientprov (ålder 1-75 år) från öppenvården där remittenten angett diarré och/eller buksmärta >10 dagar inkluderades i gruppen Patienter. Totalt inkluderades 682 patienter och mediantid för symtomduration var 4 veckor.

Resultat: I den friska gruppen var 31% positiva i PCR för *D. fragilis*. Hos friska vuxna (>18 år) var prevalensen 29% och hos friska barn (<18 år) 44%. I patientgruppen var förekomsten av *D. fragilis* 21%. Skillnaden i förekomst av *D. fragilis* mellan friska vuxna och vuxna patienter var signifikant (29% resp 12%, $p<0,001$). Ingen signifikant skillnad sågs i förekomst mellan friska och sjuka barn (44% resp 40%, $p=0,578$). Mellan kön, tid på året eller kommun sågs inga signifikanta skillnader i förekomsten av *D. fragilis*. Bland patienterna noterades ingen skillnad i *D. fragilis* förekomst mellan de som hade respektive de som inte hade andra patogener i faeces-provet.

Slutsats: *D. fragilis* hittades i stor utsträckning hos både barn och vuxna utan mag-tarm-symtom medan förekomsten av *D. fragilis* hos vuxna med symtom var betydligt lägre. Förekomsten hos barn var däremot lika hög oavsett symtom eller inte och hittades hos knappt hälften av alla barn. Dessa fynd talar för att *D. fragilis* inte orsakar mag-tarm-symtom.

Utvalt som fritt föredrag, onsdagen den 17/5 kl 09.45-09.55

(MI-07) Herpesvirus i hjärnan hos alzheimerspatienter

Jan Olsson (1), Hugo Lövheim (2), Eloise Kok (3), Fredrik Elgh (1).

(1) Institutionen för Klinisk Mikrobiologi, Virologi, Umeå Universitet (2) Institutionen för Samhällsmedicin och Rehabilitering, Geriatrik, Umeå Universitet (3) Department of Forensic Medicine, University of Tampere

Herpes simplex virus typ1 (HSV1) är ett neurotropt virus som orsakar ett antal sjukdomar; främst herpes labialis (munsår), herpes simplex-encefalit (HSE) och vissa fall av genital herpes. Infektionen är mycket vanlig, en majoritet av befolkningen är bärare av antikroppar mot HSV1. Primärinfektionen, med de tydliga kliniska symptomen, följs av en infektionsfas där viruset infekterar sensoriska neuron, ofta trigeminus, och där går in i ett vilande tillstånd och kan ligga latent i decennier. Spridning sker också i betydande omfattning till centrala nervsystemet. Reaktivering tillbaka till lytisk infektion kan ske från latent HSV1, och då spänner symptomen från munsår till allvarlig neuronal skada. Reaktiveringsmekanismerna är inte till fullo kända, klart är att patientens status (co-sjuklighet, kroppslig och mental stress, immunsvars- och andra genetiska faktorer mm) spelar stor roll. Reaktivering av HSV1 som ligger latent i hjärnan ger i värsta fall HSE, ett mycket allvarligt tillstånd med hög dödlighet. Men vad innebär en reaktivering i begränsad omfattning, där den lytiska infektionen endast påverkar ett begränsat antal hjärnneuron och därefter hejdas? Vår övergripande hypotes är att sådana händelser ökar risken för att patienten ska utveckla Alzheimers sjukdom (AS). Syftet med projektet är att visa samband mellan herpesvirus och Alzheimertypiska hjärnförändringar genom att detektera HSV1-DNA i hjärnvävnad från Alzheimers-patienter samt från personer som inte har Alzheimers sjukdom, utan som avlidit plötsligt och oväntat av andra orsaker. Projektets material består av snitt från paraffinbäddad hjärnvävnad, från två konsekutiva serier (om totalt 1603 personer) från rättsmedicinska obduktioner vid universitetet i Tammerfors, Finland. Prover är tagna från upp till 16 lokaler i hjärnan inkluderat områden med särskild relevans för Alzheimers sjukdom, som t.ex. Hippocampusområdet. Arbetsgången innebär att 20µm tjocka snitt hyvlas med mikrotom från paraffinklossar under aseptiska rutiner. Detta sker i Tammerfors. Snitten läggs i eppendorfrör och skickas till vårt lab, där vi avparaffiniserar och rehydrerar vävnaden samt extraherar total-DNA med preparationsrobot. Mängden HSV1 DNA detekteras med en panel qPCR-reaktioner riktad mot 60-70bp långa sträckor i konserverade regioner av virusgenomet och kvantifieras gentemot en HSV1-standard med kända kopietal. Samtliga prover är sedan tidigare karakteriserade vad avser förekomst av tidiga Alzheimertypiska hjärnförändringar som senila plack och neurofibrillära tangles, således kommer vi att kunna studera om förekomst av HSV1-DNA har något samband med dessa förändringar. Materialet är sedan tidigare APOE-genotypat. Vi kommer att dels studera vid vilken ålder och i vilken omfattning HSV1-DNA kan detekteras i hjärnan, och dels studera om detta har något samband med AS-typiska hjärnförändringar.

Utvalt som fritt föredrag, torsdagen den 18/5 ca kl 08.40-08.48

(MI-O8) Effect of baseline Y93H RAS in Hepatitis C genotype 3 for NS5A combination treatments: Real-life experience from a multicenter study in Sweden and Norway

Midori Kjellin(1), Hege Kileng(2), Dario Akaberi(1), Anders Bergqvist(1), Ann-Sofi Duberg(3), Lars Wesslén(4), Astrid Danielsson(5), Soo Aleman(6), Magnhild Gangsøy Kristiansen(7), Tore Gutteberg(2), Anders Lannergård(8), Johan Lennerstrand(1).

1.Uppsala University Hospital, Clinical Microbiology, Sweden, 2.Tromsø University Hospital, Norway 3.Örebro University Hospital, Sweden, 4.Gävle Hospital, Sweden, 5.Falun Hospital, Sweden, 6. Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden 7.Bodö Hospital, Norway 8. Uppsala University, Hospital, Infectious Medicine, Sweden

Background: The prevalence of HCV baseline NS5A Y93H resistance associated substitution (RAS) is approximately 7% in genotype (GT)-3 of Nordic DAA-treatment naive patients. This baseline RAS may have a negative impact on sustained viral response (SVR) as indicated by the ALLY-3 and ASTRAL 3 studies.

Patients and Method: Consecutive patients from Uppsala, Gävle and Tromsø (intervention group) and from Örebro, Falun, Stockholm and Bodö (control group) were included. In this interim report, patients with GT 3 were included in the study during Q3 2014 – Q3 2016. A prospective intervention study was performed, where treatment in the intervention group was based on baseline RASs and at the responsible MD's discretion: with Y93H e.g. prolonged daclatasvir plus sofosbuvir treatment was often used (or Eplclusa when available). Recommended treatment, according to the National Boards, was given to patients without baseline RASs (i.e. Y93H) in the intervention group and for all the patients in the control group. Ribavirin was also added at the responsible MD's discretion. The original study is planned for 100 patients in each arm during Q2 2014 – Q2 2017 with a power of 90%.

Results: Preliminary results were obtained from a total of 91 patients, including an intervention group of 57, and a control group of 34 patients. The prevalence of Y93H in the intervention group at baseline 5.3% (3/57). The non-SVR rates in the intervention group compared to the control group were 8.77% (5/57) to 11.76% (4/34), respectively. However, the limited number of patients in the control group had lower liver damage and more 24 week treatments than the intervention group. Three patients with pre-existing Y93H in the intervention group (3/57), were cured (SVR) with prolonged, 24 weeks, NS5A-inhibitor plus sofosbuvir treatment without ribavirin, or with Peg-INF/RBV + sofosbuvir. Additions of ribavirin in both genotype groups indicate a positive effect on SVR12.

Conclusion: The number of patients is too low to draw any final conclusions regarding SVR12, but the preliminary results indicate higher SVR12 for the intervention group. All the three patients with pre-existing Y93H were successfully treated in the intervention group. The study is ongoing and completions of patient data are pending as well as analysis of baseline RAS Y93H on patients from the control group.

Utvalt som fritt föredrag, torsdagen den 18/5 ca kl 09.00-09.08

(MI-09) *Staphylococcus hominis* vanlig i blododlingar men har sällan etiologisk betydelse

Anders Werner, Martin Sundqvist.

Laboratoriemedicinska kliniken, Klinisk Mikrobiologi, Universitetssjukhuset Örebro

Växt av koagulasnegativa stafylokokker(KNS) i blododling utgör ett kliniskt dilemma då de ofta är kontaminanter men ibland orsak till patientens infektion. MALDI-TOF har gjort att vi rutinmässigt kan artbestämma KNS till speciesnivå. I denna studie undersöktes förekomsten av olika KNS i blododlingar och en värdering av deras sannolikhet att vara kliniskt betydelsefulla gjordes.

Metod En retrospektiv genomgång av alla blododlingar med växt av KNS tagna under 9 månader i Region Örebro län genomfördes. Artidentifiering utfördes med MALDI-TOF (Bruker Daltonics). Scorevärde >1,7 med samstämmigt artförslag användes i studien som gräns för artidentifiering. Art, antal positiva flaskor och om utsvarande läkare föreslagit kontamination noterades. Prover med flera KNS(n=41), kvalitetsutskick (n=1) och prover från avlidna (n=2) exkluderades. Fyndets betydelse bedömdes utifrån en kombination av antal positiva flaskor och mikrobiologs bedömning på svaret. Växt i enbart 1 av flera flaskor och förslag om kontamination klassades som låg sannolikhet för etiologisk orsak och växt i 3 eller fler flaskor tillsammans med inget förslag om kontamination klassades som hög.

Resultat 201 provtagningstillfällen inkluderades som fördelades på 91 fynd av *S. epidermidis* (45%), 72 *S. hominis* (36%), 22 *S. capitis* (11%), 6 *S. pettenkofferi* (3%), 3 *S. lugdunensis*, 2 *S. saprophyticus*, 2 *S. warneri*, 1 *S. pasteurii*, 1 *S. saccharolyticus* samt 1 ej artbestämd KNS. 108 provtagningstillfällen (53%) klassades som låg sannolikhet för etiologisk betydelse medan 23 (11%) bedömdes som hög. Detta lämnade 70 (34%) tillfällen utanför någon av dessa två kategorier. *S. epidermidis* var oftare associerad med hög sannolikhet att representera infektion (18%, n=16) jämfört med *S. hominis* (4%, n=3), $p < 0.01$. För *S. pettenkofferi*, *S. warneri* och *S. saccharolyticus* noterades inget fall med hög sannolikhet för etiologisk betydelse medan *S. pasteurii* och *S. saprophyticus* i var sitt fall associerades med klinisk betydelse. 68% av proverna med växt av *S. hominis* var provtagna vid en akutmottagning medan andelen för *S. epidermidis* var 35%, $p < 0.01$. Andelen fynd av *S. epidermidis* som kom från vård givare med högriskpatienter för KNS-infektion (IVA, njur-, hematolog- samt onkologsektion) var 26% och för *S. hominis* 3%, $p < 0,01$.

Konklusion Vi noterade i denna studie, baserad på modern artbestämning av stafylokokker, att *S. hominis* var ett näst intill lika vanligt fynd som *S. epidermidis* i blododlingar men sällan associerad med etiologisk betydelse. I vår miljö saknades förekomst av *S. haemolyticus* som rapporterats vanligt i andra studier. *S. hominis* skulle kanske kunna användas som markör för provtagningskontamination.

Utvalt som fritt föredrag, torsdagen den 18/5 ca kl 09.20-09.28

(MI-10) Serologisk korsreaktivitet mellan *Anaplasma phagocytophilum* och *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* samt validering av en realtids PCR för detektion av *A. phagocytophilum*

Linda Wass (1), Anna Grankvist (1), Karen Krogfelt (3), Björn Olsen (4), Anna J. Henningsson (2) Christine Wennerås (1*)

(1) Klinisk mikrobiologi, Sahlgrenska Universitetssjukhuset, (2) Mikrobiologilaboratoriet, Länssjukhuset Ryhov, (3) Statens Serum Institut, Köpenhamn, (3) Infektionsmedicin, Akademiska Sjukhuset

Syfte och bakgrund: Föreligger det serologisk korsreaktivitet mellan *A. phagocytophilum* och *Ca. N. mikurensis*?

De två bakterierna är mycket närbesläktade med varandra och orsakar anaplasmos respektive neoehrlichios. *A. phagocytophilum* är en väl utforskad patogen medan *Ca. N. mikurensis* är en relativt nyupptäckt intracellulär bakterie som än så länge är icke odlingsbar. *Ca. N. mikurensis* är vida spridd bland fästingar och gnagare i Europa och Asien och kan orsaka infektion hos människor, främst immunsupprimerade patienter men även friska individer. Neoehrlichios ger symtom som långvarig hög feber, hudutslag och lokaliserad eller generell muskelsmärta. Anmärkningsvärt är att patienter med neoehrlichios kan utveckla djupa ventromboser, lungembolier, transitorisk ischemisk attack eller kärlaneurysm. Varför neoehrlichios orsakar kardiovaskulära tillstånd är ännu okänt. Få patienter med neoehrlichios kan diagnostiseras då det ännu inte finns någon serologisk metodik för påvisning av *Ca. N. mikurensis*. Då man misstänker att det föreligger serologisk korsreaktivitet mellan *Ca. N. mikurensis* och *A. phagocytophilum* påbörjades en studie för att kartlägga seroprevalens och bakterie-DNA förekomst.

Material och metod: Sammanlagt har 100 serumprover från patienter med misstänkt anaplasmos analyserats med PCR specifik för *Ca. N. mikurensis*. De analyserade patientproverna är från Sahlgrenska Universitetssjukhuset (n=69), Länssjukhuset Ryhov i Jönköping (n=20) och Statens Serum Institut i Köpenhamn (n=11). Även 12 serumprover från patienter diagnostiserade med neoehrlichios har analyserats med serologisk diagnostik (IFA) för *A. phagocytophilum*. För att detektera aktuella infektioner orsakade av *A. phagocytophilum* pågår även en validering av en *A. phagocytophilum*-PCR som ämnar detektera human anaplasmos i blod.

Resultat: Av de 100 serumprover från patienter med misstänkt anaplasmos kom 53 % från kvinnor och 47 % från män. Medelåldern för patienterna bakom de inskickade proverna var 55 år. Ungefär hälften (n=54) var positiva för *A. phagocytophilum* enligt IFA-metod och resterande (n=46) var negativa. De positiva proverna erhöll positiva titrar mellan 1/64 till 1/1280. Ett av proverna (n=1) var positivt även i *Ca. N. mikurensis*-PCR. Fyra av de sammanlagt 12 neoehrlichiospatienterna hade antikroppar, både IgG och IgM, mot *A. phagocytophilum*

En viss serologisk korsreaktivitet verkar föreligga mellan *Ca. N. mikurensis* och *A. phagocytophilum*.

Utvalt som fritt föredrag, torsdagen den 18/5 ca kl 09.40-09.48

Abstracts som presenteras som posters

(MI-P1) Har utgått

(MI-P2) Det blir billigare diagnostik av tarmbakterier med PCR än med odling

Maria Pfolz (1), Monica Palmlycke (1), Helena Riise (1), Darinka Bogicevic Andersson (2), Nina Kamenska (2), Claes Henning (1).

(1) Lab för klinisk mikrobiologi, Södra Älvsborgs Sjukhus, Borås (2) Klinisk mikrobiologi, Norra Älvsborgs Länssjukhus, Trollhättan

Det går snabbare och blir billigare att påvisa tarmbakterier i faeces med PCR än med odling. Trots det har endast 9/24 kliniskt mikrobiologiska laboratorier i Sverige infört en sådan metod i sin rutindiagnostik. Det kan bero på att *Yersinia* tidigare inte ingått i kommersiella testpaneler. Eftersom apparat- och materialkostnader för PCR är högre än för traditionell odling kan det också bero på lokala direktiv att ny teknik bara får införas om inte sjukvårdens totala kostnader ökar.

Material och metod: Rutinodling och BD Max utfördes på 354 faecesprov insända med e-swab, selekterade genom anamnesuppgifter som prov med förhöjd sannolikhet av patogena tarmbakterier. Avsikten var att jämföra påvisande av *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella* och *Yersinia* för de två metoderna. För EHEC undersökning sändes 212 av faecesproverna parallellt till SU. Arbetstid och förbrukningsmaterial jämfördes enligt en metod beskriven av Mortensen et al.[1]. Rörelsemönstret och antalet beslutsteg för BMA kartlades med spagettidiagram.

Resultat: Tarmpatogener påvisades i 94/354 (27 %) av proverna. Totalt påvisades 95 tarmpatogener med odling och 102 med BD Max. Odling/BD Max: *Campylobacter* 57/59, *Salmonella* 29/29, *Shigella* 3 /4 och *Yersinia* 6/10 . I prov sända till SU påvisades 6 fall av EHEC. BD Max påvisade 5 av dessa. Negativa rutinodlingar tog 2 vardagar. Misstänkt positiva eller positiva tog 1-2 dagar längre. BD Max kunde besvaras efter 2 timmar, men för bättre resursutnyttjande samlade prover till 1-2 batcher per dag. Kostnaderna för förbrukningsmaterial var likvärdiga för de två metoderna. Tidsbesparingen för ett laboratorium med 4000-5000 faecesodlingar per år varav omkring 10 % positiva motsvarade 0,75 FTE.

Diskussion: Vid primär faecesundersökning med en kommersiell PCR plattform behövs fortfarande enligt smittskyddslagen odling för differentialdiagnostik av *Shigella*/EIEC, och odling för epidemiologisk typning av inhemska *Salmonella*isolat. Det avsevärt minskade antalet manuella arbetssteg minskar förväxlingsrisken mellan proverna. Ett minskat behov av olika agarmedier frigör också utrymme i kylskåp och termostater. Den inbesparade tiden ska inte diffust absorberas av rutinverksamheten eller användas till expansion med ny teknik. Tjänsteutrymmet bör gå tillbaka till sjukvårdsorganisationen – det kan finnas andra verksamheter som har högre prioritet.

Referens: 1. Mortensen JE, Ventrola C, Hanna S, Walter A. Comparison of time-motion analysis of conventional stool culture and the BD MAX™ Enteric Bacterial Panel (EBP). BMC Clinical Pathology (2015) 15:9.

Utvalt till posterpresentation, tisdagen den 16/5 från kl 18.00

(MI-P3) Monitoring *Clostridium difficile* types in clinical routine using MALDI-TOF

Lucía Ortega, Åsa Johansson

Region Kronoberg; Klinisk Mikrobiologi för Kronoberg och Blekinge, Central Hospital; Department of Clinical Microbiology

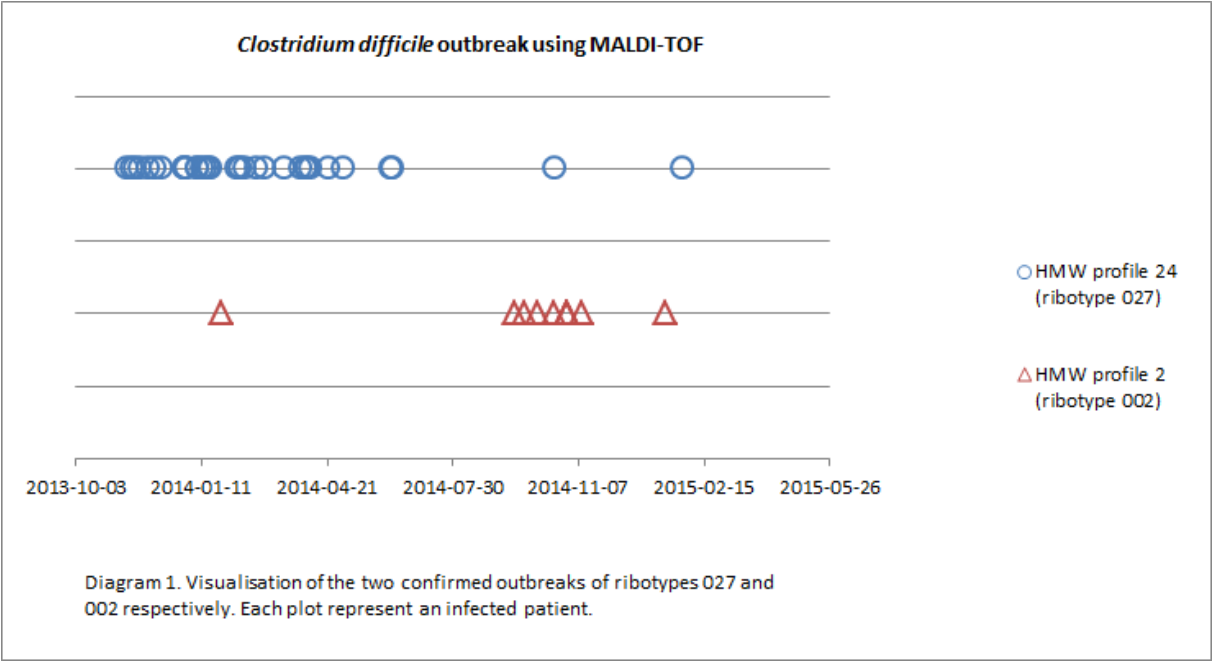
Background: *Clostridium difficile* (CD) is a common cause of diarrhea in patients with antibiotic treatment and long hospital stay. The severity of the symptoms varies and depends on the patient's condition but also on which type of CD causes the infection. To suspect and confirm the dissemination of a certain clone within a ward or a hospital, CD must be cultured and isolates has to be typed.

In 2015 Rizzardi *et al* published a novel method where CD isolates were typed with MALDI-TOF and classified into High molecular weight (HMW)-profiles according to their surface layer proteins (Kristina Rizzardi, Thomas Åkerlund. High Molecular Weight Typing with MALDI-TOF MS - A Novel Method for Rapid Typing of *Clostridium difficile*. Published: April 29, 2015. DOI:10.1371/journal.pone.0122457). The HMW-profiles correlates partly with ribotypes. Using this method, we retrospectively analyzed all CD isolated between Sep 2013 and March 2016. The aim of this project was to: 1) evaluate the capability of the method to differentiate between CD strains, 2) map the diversity of CD types between and within four hospitals with only little exchange of patients 3) see if the method could detect two previously identified CD outbreaks (ribotypes 027 and 002), and 4) point to other, hitherto unknown outbreaks.

Material/methods: The study encompassed 489 isolates cultured from CD toxin-positive feces samples collected between Sep 2013 and March 2016 from four different hospitals in two different counties in Sweden. The material did not contain repeat isolates. All isolates were analyzed according to the published method, with the addition of an internal calibrant to guarantee the correct masses. Generated spectra were automatically interpreted to a HMW-profile by software provided by the Swedish Health Agency.

Results: Among the 489 isolates, 23 of 32 possible HMW-profiles were represented. The predominant HMW-profile was 14 (which correlates to ribotypes 011, 014/077, 020, 095, 103, 106, 220, x144), followed by 13 (ribotypes 011, 029, 039, 043, 078, 097,x48, x4, x119, x78, x90, x25) and 5 (ribotypes 005, 015, 023, 050, 054, 075, 080, 116, 234, 375 ,x25, x50, x6). To increase the granularity of HMW-typing these profiles can be subtyped further. Plotting the HMW-profiles over a time line revealed the two known CD outbreaks as clusters (Diagram 1).More clusters were identified and further investigations using Next Generation Sequencing is being performed.

Conclusions: HMW-typing is a simple, rapid and cheap method to monitor the spread of CD types in healthcare settings. If performed as a real time service it can provide early detection, and thus prevention, of larger CD outbreaks. HMW-types can be correlated to more virulent ribotypes, such as 027, in support of infection control measures. The method is now part of the clinical routine in our hospitals.



Utvalt till posterpresentation, tisdagen den 16/5 från kl 18.00

(MI-P4) Clinical evaluation of a molecular assay for direct and rapid screening for *Streptococcus agalactiae* in vaginal/rectal samples

Ferda Ataker, Petra L uthje, Shaza Ahmad, M ans Ullberg, Baharak Saeedi.
Karolinska Universitetssjukhuset, Huddinge

Group B streptococcus (GBS) is one of the principal causes of severe neonatal infections. The current culture-based method for detection of GBS has low sensitivity and is time-consuming. To prevent GBS infection among newborns, multiple assays have been developed in order to establish rapid and efficient screening test for detection of GBS in vaginal or rectal samples from pregnant women. This study aimed to evaluate the performance of a PCR assay, the GenomEra™ GBS assay (Abacus Diagnostica, Finland), as a direct and rapid method for detection of GBS in vaginal or rectal samples, by using the culture-based method as reference. A total of 159 vaginal and rectal samples were selected on the basis of culture-results obtained from the clinical of microbiology at Karolinska University Hospital. Based on the culture results, all GBS-positive samples (n=58) as well as 101 negative samples were selected for this study. Samples were directly (without prior enrichment) analyzed with the GenomEra™ GBS assay. Among those, 61 (38.36%) yielded positive results from the PCR assay. The PCR assay had a turnaround time of 1 hour and with sensitivity and specificity of 93.10% and 93.07%, respectively. The negative and positive predictive value was 95.92% and 88.52%, respectively. Our results indicate that this PCR assay provides a new efficient screening test of GBS for prevention of neonatal infections and unnecessary use of intrapartum antibiotic prophylaxis.

Utvalt till posterpresentation, tisdagen den 16/5 fr an kl 18.00

(MI-P5) Detektion av Grupp B streptokocker med CHROMagar StrepB

Shaza Ahmad, Ferda Ataker, Petra Lüthje, Baharak Saeedi.

Karolinska Universitetslaboratoriet, klinisk mikrobiologi Bakteriologen Huddinge

Vaginal kolonisering av grupp B-streptokocker (GBS) hos gravida är en stor riskfaktor för invasiv GBS-infektion hos nyfödda. GBS överförs till nyfödd under förlossningen men kan i sällsynta fall även ge upphov till intrauterin infektion. Tidigt upptäckt kan förhindra dessa infektioner, varför screening för GBS utförs hos gravida. I studien jämfördes två agarmedier för selektion av GBS, den kromogena agarn CHROMagar StrepB och fårblodagar med gentianaviolett (BG agar), som används i rutin diagnostik idag. Totalt 358 vaginal- eller cervixprov odlades ut på CHROMagar StrepB och BG agar. Alla prov odlades även i anrikningsbuljong. Plattor och buljongen inkuberades över natten i 36°C. Artbestämning av misstänkta kolonier gjordes med MALDI-TOF MS eller latex agglutination. Prover negativa för GBS dag 1 odlades ut från GBS-buljong på BG agar och bedömdes dag 2. Totalt hittades 71/358 (20%) GBS-positiva prover. Dag 1 hittades 55/71 (77%) på CHROMagar StrepB jämfört med 41/71 (58%) på BG agar. Växt av GBS påvisades i ytterligare 26 prover dag 2 efter anrikning. Samtliga betastreptokocker växte med rosa kolonier på CHROMagar, men kunde enkelt urskiljas från enterokocker med blå kolonifärg. Differentiering mellan enterokocker och streptokocker från BG agarn på grund av kolonimorfologi var tveksam och bekräftades oftast med agglutination eller MALDI-TOF MS. Den kromogena agarn CHROMagar StrepB underlättar upptäckt och identifiering av GBS och andra betastreptokocker, vilket är särskilt relevant vid skärmavläsning. Däremot är metoden inte tillräckligt specifik för att utesluta artbestämning med agglutination eller MALDI-TOF MS. Odlingen på CHROMagar StrepB ökar sensitiviteten jämfört med nuvarande odling på BG agar och tillåter upptäckt av fler GBS-positiva prover redan dag 1. Anrikningsodling måste dock fortfarande genomföras för prover som är negativa i direktodling.

Utvalt till posterpresentation, tisdagen den 16/5 från kl 18.00

(MI-P6) Antimicrobial resistance among *Escherichia coli* in wastewater seem to reflect resistance among *Escherichia coli* in the society

Inger Kühn(1), Young-Keun Kwak(1), Patricia Colque(1), Sara Byfors(2), Christian G. Giske(1,3), Roland Möllby(1).

(1) Department of Microbiology, Tumor and Cell Biology, Karolinska Institutet, SE-171 77 Stockholm, Sweden (2) Department of Microbiology, Public Health Agency of Sweden, Solna, Sweden (3) Clinical microbiology, Karolinska University Hospital, Solna, Stockholm, Sweden

The resistance patterns of *Escherichia coli* in untreated (raw) urban wastewater (UW) were monitored by repeated sampling during one year. Comparisons to data from wastewater samples collected from a hospital (HW) in the same urban area were made.

Material. A total of 1,325 *E. coli* isolates from 17 UW samples and 451 from six HW samples were analysed by typing (the PhenePlate system) and susceptibility testing towards ten antibiotics (AREB system).

Results. Resistance to at least one antibiotic was observed in 34 % of the UW isolates and in 55 % of the HW isolates. The diversity among susceptible UW isolates was lower than among resistant isolates, indicating presence of susceptible clonal groups of *E. coli*. Total antibiotic resistance measured as the Multiple Antibiotic Resistance (MAR) index increased over time for UW isolates, indicating increasing resistance among *E. coli* in the urban population during the studied time period. Extended resistance to beta-lactam antibiotics was detected in 2.4 % of the UW isolates and in 14 % of the HW isolates.

Conclusions. By cultivating samples from wastewater and analysing many independent isolates per sample we detected increasing frequencies of antibiotic resistance in urban wastewater (UW) during one year that may reflect increasing faecal carriage of resistant bacteria in the society. Surveillance of antibiotic resistance in waste water constitutes a valuable tool for screening of resistance (trends) on a population level.

Utvalt till posterpresentation, tisdagen den 16/5 från kl 18.00

(MI-P7) Snabb, direkt resistensbestämning av Enterobacteriaceae från positiva blododlingar. En jämförelse av två metoder.

Anna Åkerlund (1,3), Karin Frykfeldt (1), Marita Skarstedt (1), Jonas Swanberg (1), Lena Serrander (2,3), Martin Sundqvist (4).

(1) Klinisk mikrobiologi, Länssjukhuset Ryhov, Jönköping (2) Klinisk mikrobiologi, Universitetssjukhuset, Linköping (3) Institutionen för klinisk och experimentell medicin, Linköpings universitet (4) Laboratoriemedicinska kliniken, Mikrobiologi, Universitetssjukhuset, Örebro

Introduktion. Ökande antibiotikaresistens leder till ökad risk för inadekvat empirisk antibiotikabehandling. Snabba odlings svar kan korta tiden till rätt terapi. Här jämförs två metoder för snabb fenotypisk resistensbestämning från blododlingar med växt av Enterobacteriaceae.

Material och metoder 1 ml från vardera 187 kliniska blododlingar med växt av Enterobacteriaceae, blandades med 200 µl 5 % saponinlösning. Pelleten tvättades och torkades för artidentifiering med MALDI-TOF, varefter den slammades i 0.85% NaCl till en turbiditet om 0.5-0,6 McFarland. Resistensbestämning utfördes sedan baserat på EUCAST:s metodologi med ceftazidim (CAZ), cefotaxim (CTX), meropenem (MEM), piperacillin-tazobaktam (TZP), ciprofloxacin (CIP), trimetoprim-sulfametoxazol (SXT), tobramycin (TOB) och amikacin (AK) med avsteget att zon-avläsning skedde efter 6 timmars inkubering i 35°C luft. Från 153 av blododlingarna utfördes metod två, där 5 droppar från positiv flaska blandades med 1,5 ml NaCl och ströks på Mueller Hinton-Fastidious agar (MH-F). Samma antibiotika, förutom SXT och AK, testades. Inkubering skedde i 35°C luft med 4-6% CO₂ och med zon-avläsning efter 6 timmar. För denna metod användes sedan tidigare anpassade brytpunkter för bedömning av S och R. Samtliga 187 stammar resistensbestämde från framväxt bakteriekoloni med EUCAST:s lappdiffusionsmetod. En jämförelse av zonstorlek och SIR-kategorisering utfördes slutligen mellan ordinarie resistensbestämning och de två snabba metoderna. Eventuella felkategoriseringar noterades som minor error (mE), major error (ME) och very major error (VME).

Resultat Snabbmetoden från MALDI-pellet (M) separerade vildtyp från icke-vildtyp bättre jämfört med metoden på MH-F (D). Antalet VME var för de flesta antibiotika mycket lågt medan mE var vanligt (tabell 1). De fyra ESBL isolaten (*E.coli*) klassificerades rätt med båda metoderna. Antalet isolat som med EUCAST:s riktlinjer ska testas vidare för karbapenemas-produktion (MEM <25 mm samt MEM 25-26 mm och samtidigt R för TZP) skiljde stort mellan metoderna; 11 (M), 44 (D) resp 1 isolat (standardinkubering).

Tabell 1

Error	CAZ (M)	CAZ (D)	CTX (M)	CTX (D)	MEM (M)	MEM (D)	CIP (M)	CIP (D)	TZP (M)	TZP (D)	TOB (M)	TOB (D)	SXT (M)	AK (M)
E.coli:	11 mE	0	0	0	0	0	1 VME, 8 ME, 24 mE	1 VME, 3 mE	5 mE	3 ME 2 mE	4 mE	2 mE		1 mE
Klebsiella:	2 mE	0	0	0	0	1 VME	1 VME, 6 mE	2 VME, 1 mE	1 ME, 3 mE	5 ME	2 mE	1 mE	0	1 mE
Övriga EBC:	3 mE	1 VME	1 VME	1 VME	0	0	1 ME, 8 mE	1 mE	1 mE	0	2 mE	0	0	0
Tot:	16 mE	1 VME	1 VME	1 VME	0	1 VME	2 VME, 9 ME, 38 mE	3 VME, 5 mE	1 ME, 8 mE	8 ME, 2 mE	8 mE	3 mE	8 VME	2 mE

Antalet error, uppdelat på arterna *E.coli*, *Klebsiella* och övriga EBC, då två snabbmetoder för direkt resistensbestämning jämfördes med standardiserad referensmetod.

(M) = snabb resistensbestämning från Mald-pellet. (D) = snabb resistensbestämning från blodmaterial på MH-F-agar med modifierade brytpunkter.

Diskussion. Studien visar att båda metoderna för snabb, direkt resistensbestämning kan vara användbara, men att kort inkubation skapar ett mer osäkert system. SIR-kategorisering för CIP och SXT bedöms för osäker för rapportering efter 6 timmars inkubering, men då dessa inte rekommenderas som förstahandspreparat vid sepsis, borde dess resistensbesked kunna vänta. För metoden från MALDI-pellet skulle en "area of uncertainty" mellan en tydlig R- och en tydlig S-grupp, som inte svaras ut, kunna minska antalet felkategoriseringar. För metoden odlad på MH-F skulle justering av brytpunkterna kunna förbättra utfallet.

Utvalt till posterpresentation, tisdagen den 16/5 från kl 18.00

(MI-P8) Proposed breakpoints for rapid antimicrobial susceptibility testing with disk diffusion tests direct from positive blood cultures for *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae*

E. Jonasson (1), E. Matuschek(1,2), M. Sundqvist(3), G. Kahlmeter(1,2)

(1)Department of Clinical Microbiology, Central Hospital, Växjö, Sweden, (2) EUCAST Development Laboratory, Växjö, Sweden, (3) Department of Laboratory Medicine, Clinical Microbiology, Örebro University Hospital, Örebro, Sweden.

Background: With increasing antimicrobial resistance, rapid antibiotic susceptibility testing becomes important, especially in patients with blood stream infections. We have previously shown good results with early reading after 6 and 8 hours incubation (Poster 850, ECCMID 2016) with a standard inoculum from an overnight culture. The objective of this study was to shorten the time even further by inoculating disk diffusion plates directly from warm blood culture bottles and to read as soon a visual growth was seen.

Material/methods: Blood culture bottles, BACTEC™ Plus Aerobic (BD), were inoculated with pure cultures of *Escherichia coli* (n=61), *Klebsiella pneumoniae* (n=52), *Staphylococcus aureus* (n=54) and *Streptococcus pneumoniae* (n=56) together with 5 mL defibrinated horse blood and placed in the BACTEC FX (BD). Isolates with varying levels of non-susceptibility were included. Disk diffusion was performed with EUCAST methodology, but with modified inoculum and incubation time.

Approximately 150 µL (3 drops from a syringe) from the positive bottle was added to each Muller-Hinton agar plate and evenly distributed. Clinically relevant antibiotics for sepsis treatment were included (Table 1). Inhibition zones were read after 4, 6 and 8 hours incubation, on the same re-incubated plate. Mueller-Hinton agar from two manufacturers (BBL/BD and Oxoid/Thermo Fisher Scientific) was used. Broth microdilution according to ISO 20776-1 (EUCAST MH-F broth for *S. pneumoniae*) was used as a reference and MICs were interpreted according to EUCAST breakpoints. Suggested zone diameter breakpoints were set to avoid any false susceptibility, whereas occasional false resistance was accepted.

Results: Using direct inoculation from positive and warm blood cultures bottles shortened the time to result (defined as a zone which can be comfortably read) compared to when a “cold” inoculum of McFarland 0.5 was utilized. Many zones could be read already after 4 hours and almost all after 6 and 8 (Table 1). The table also shows proposed breakpoints for 4, 6 and 8 hour reading for the 25 organism-antibiotic combinations. Breakpoints were set to guarantee susceptibility and results between S and R were not interpreted, named “Uncertain”. None of the reported S were later reported as R. Between 0-30% (mean 12%) were “uncertain”.

Conclusion: Disk diffusion following direct inoculation of susceptibility plates from positive blood cultures with attempted reading after 4, 6 and 8 hours is possible. The number of isolates categorised as “uncertain” is depending on the local resistance rate, in consecutive clinical isolates. When zones were uncategorised after 4h, the isolates should be re-incubated and read again after 6 and 8 h. Results that cannot be interpreted S/R even after 8 hours incubation must be retested with standard methodology. We will further evaluate the proposed method and breakpoints for more clinical isolates and more species.

Utvalt till posterpresentation, tisdagen den 16/5 från kl 18.00

(MI-P9) Evaluation of five commercial MIC methods for colistin antimicrobial susceptibility testing for Gram-negative bacteria

Erika Matuschek, Jenny Åhman, Catherine Webster and Gunnar Kahlmeter
EUCAST Development Laboratory, Växjö, Sweden

Background: An accurate method for antimicrobial susceptibility testing for colistin is crucial in an era of increasing numbers of multi-resistant bacteria and the simultaneous increasing colistin resistance. EUCAST and CLSI have agreed on how to perform broth microdilution (BMD) for colistin. The objective of this study was to evaluate three commercial BMD methods and two gradient tests for colistin MIC determination using frozen BMD panel MICs as reference.

Material/methods: Antimicrobial susceptibility testing was performed on an international collection of Gram-negative bacteria (n=75) with colistin MICs 0.25-128 mg/L: *Escherichia coli* (n=14), *Klebsiella pneumoniae* (n=18), *Pseudomonas aeruginosa* (n=21) and *Acinetobacter* spp. (n=22). Colistin MIC determination was performed according to the manufacturers' instructions on frozen BMD panels (TREK Diagnostics/Thermo Fisher Scientific), three BMD methods with freeze-dried antibiotics: SEMPA1 (custom Sensititre plate, TREK Diagnostics), Micronaut-S and Micronaut MIC-Strip (MERLIN Diagnostika) and two gradient tests: Etest (bioMérieux) and MIC Test Strip (MTS, Liofilchem). Etest and MTS were tested on Oxoid (Thermo Fisher Scientific) and BBL (BD) Mueller-Hinton agar in parallel, and Etest also on the bioMérieux' MHE medium (as recommended by the manufacturer). Isolates with skipped wells for BMD were retested. *E. coli* ATCC 25922 and *P. aeruginosa* ATCC 27853 (≥ 7 tests per strain and method) were used as quality control (QC). Essential (EA) and categorical agreements were calculated according to ISO 20776-2 vs. EUCAST Breakpoint Tables v. 6.0, but with revised breakpoints for *Pseudomonas* spp. ($S \leq 2$, $R > 2$ mg/L).

Results: Essential and categorical agreements for the five methods are shown in Table 1. The correlation with reference MICs was good for all BMD methods (EA 96-99%) but poor for gradient tests (43-71%). Skipped wells occurred occasionally on all BMD panels and resulted in unreliable results unless retested. The BMD methods tended to overcall resistance to a small extent (major errors). Gradient tests generally underestimated MICs, resulting in a significant number of false susceptible results (very major errors). For BMD methods, all QC results were within ranges, except for one reading below the range for Micronaut MIC-Strip with *E. coli* ATCC 25922. All MICs for MTS were within range for both QC strains. All Etest MICs were out of range for *E. coli* ATCC 25922 on BBL and MHE agar, whereas most MICs were within range for *P. aeruginosa* ATCC 27853.

Conclusions: The commercial BMD methods reliably determined colistin MICs when no skipped wells were present. The correlation between gradient tests and reference MICs was poor, even when QC results were within range. This was probably related to the poor diffusion of colistin in agar. Based on the results of this study, EUCAST recommends laboratories to use BMD methods for colistin MIC determination and advice against the use of gradient tests at this point.

Table 1. Essential and categorical agreement for colistin MIC tests for 75 Gram-negative bacteria with MICs on frozen panels as reference.
Categorical agreement was calculated against EUCAST Breakpoint Tables v 6.0, but with the EUCAST revised breakpoint for *Pseudomonas* spp. (S≤2, R>2 mg/L).

	Organism	<i>E. coli</i> and <i>K. pneumoniae</i> (n=32)	<i>P. aeruginosa</i> (n=21)	<i>Acinetobacter</i> spp. (n=22)	All isolates (n=75)
	Colistin MIC range (mg/L)	0.25-32	0.25-128	0.5-32	0.25-128
EA ¹	SEMPA1 ⁴	27	19	20	66 (96%)
	MICRONAUT-S	31	21	20	72 (96%)
	MIC-Strip	31	21	22	74 (99%)
	Etest/Oxoid MH	27	13	13	53 (71%)
	Etest/BBL MH	20	11	1	32 (43%)
	Etest/MHE	24	9	2	35 (47%)
	MTS/Oxoid MH	19	12	9	40 (53%)
	MTS/BBL MH	24	10	13	47 (63%)
ME ²	SEMPA1	1	1	2	4
	MICRONAUT-S	2	1	3	6
	MIC-Strip	2	0	0	2
	Etest/Oxoid MH	2	0	0	2
	Etest/BBL MH	1	0	0	1
	Etest/MHE	2	0	0	2
	MTS/Oxoid MH	0	0	0	0
	MTS/BBL MH	0	0	0	0
VME ³	SEMPA1	0	0	0	0
	MICRONAUT-S	0	2	0	2
	MIC-Strip	0	2	0	2
	Etest/Oxoid MH	0	6	6	12
	Etest/BBL MH	1	7	7	15
	Etest/MHE	0	5	4	9
	MTS/Oxoid MH	6	6	4	16
	MTS/BBL MH	5	6	7	18

¹ Essential agreement (MICs being within ± 1 dilution of reference MICs)

² Major Errors (R with test method, S with reference method = false resistant)

³ Very Major Errors (S with test method, R with reference method = false susceptible)

⁴ The total number of tests for calculation of EA was 28 for *E. coli*/*K. pneumoniae* and 19 for *P. aeruginosa* due to truncation at 0.25 and 32 mg/L.

Utvalt till posterpresentation, tisdagen den 16/5 från kl 18.00

(MI-P10) Methicillin resistance in coagulase-negative staphylococci – can we use the same screening breakpoints for all species?

Jenny Åhman, Erika Matuschek, Catherine Webster and Gunnar Kahlmeter
EUCAST Development Laboratory, Växjö, Sweden

Background: The cefoxitin 30- μ g disk has been shown to reliably predict the *mecA* status, and hence methicillin resistance, in *Staphylococcus* spp. EUCAST has published specific screening breakpoints for coagulase-negative staphylococci (CoNS) other than *S. lugdunensis* and *S. saprophyticus* (R<25 mm), separate from the breakpoints for *S. aureus*, *S. lugdunensis* and *S. saprophyticus* (R<22 mm). With the introduction of MALDI-TOF, more data have become available for different species of CoNS, indicating that the breakpoints need to be reviewed. The objective of this study was to evaluate EUCAST cefoxitin zone diameter screening breakpoints for methicillin resistance in different species of CoNS.

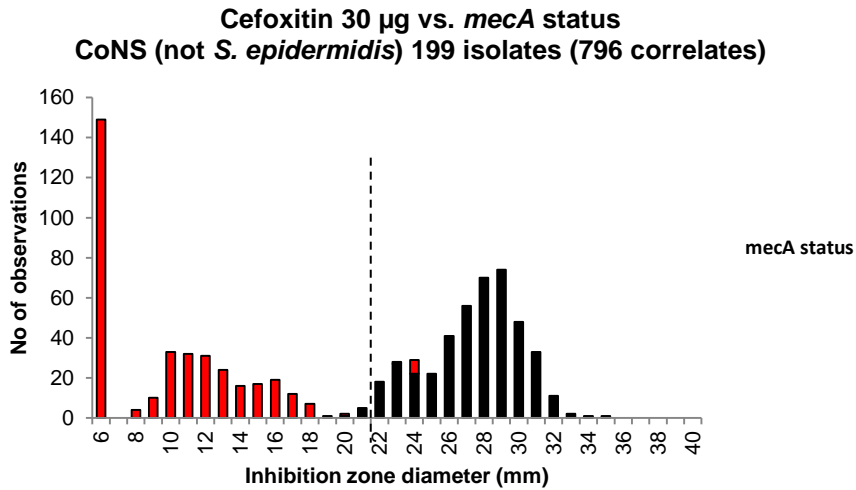
Material/methods: Antimicrobial susceptibility testing was performed for 230 clinical isolates of CoNS with different geographical origin and known *mecA* status (110 *mecA* positive and 120 *mecA* negative). The collection included *S. warneri* (n=52), *S. haemolyticus* (n=48), *S. cohnii* (n=39), *S. hominis* (n=33), *S. epidermidis* (n=31) and *S. capitis* (n=27). Disk diffusion was performed according to EUCAST methodology with cefoxitin 30- μ g disks from Oxoid (Thermo Fisher Scientific) and Mast on in-house prepared Mueller-Hinton (MH) plates using agar from two manufacturers (BBL/BD and Oxoid) in parallel. Quality control was performed with *S. aureus* ATCC 29213. Very major and major errors (VME and ME) were calculated according to ISO 20776-2 with *mecA* status as reference.

Results: The cefoxitin 30- μ g disk reliably separated *mecA*-negative and positive isolates in CoNS, although zone diameter distributions differed between the species. Cefoxitin zone diameters for *mecA*-positive isolates were <27 mm for *S. epidermidis* and <21 mm for the other species, except for two *S. hominis* isolates which exhibited zone diameters inside the wild type. These isolates phenotypically expressed resistance after induction with cefoxitin, suggesting the *mecA* genes were silent.

Aggregating data for all CoNS resulted in 7.9% ME and 0.2% VME using the current screening breakpoint (R<25 mm). MEs were mainly caused by *S. cohnii* (21/22 isolates) reported as false resistant. Excluding data for *S. epidermidis* (Figure 1a), suggested a common screening breakpoint for *S. aureus* and CoNS other than *S. epidermidis* at R<22 mm. For *S. epidermidis* (Figure 1b), a screening breakpoint of R<25 mm correctly categorized all *mecA*-positive isolates, except for one isolate being reported as susceptible when tested on BBL MH and resistant on Oxoid MH. The two suggested breakpoints resulted in overall error rates as follows: ME 0.7% and VME 1.1%. Excluding the two *S. hominis* with silent *mecA* gene resulted in VMEs at 0.2%. All results for *S. aureus* ATCC 29213 were within EUCAST QC ranges.

Conclusions: This study shows that the cefoxitin screening breakpoints for methicillin resistance in CoNS need adjustment. New data suggest a common screening breakpoint for *S. aureus* and CoNS other than *S. epidermidis* at R<22 mm, and a separate screening breakpoint for *S. epidermidis* at R<25 mm. The revised breakpoints were published in the EUCAST Clinical Breakpoint Tables v. 7.1, March 2017.

a)



b)

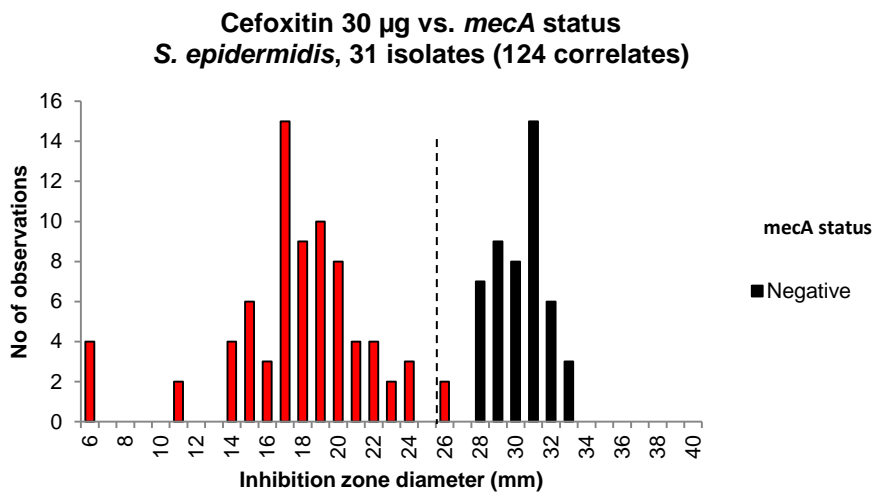


Figure 1. Inhibition zone diameter distributions for cefoxitin 30 µg with a) Coagulase-negative staphylococci other than *S. epidermidis*, b) *S. epidermidis*. *mecA* status is shown as coloured bars and suggested zone diameter screening breakpoints are shown as dotted lines.

Utvalt till posterpresentation, tisdagen den 16/5 från kl 18.00

(MI-P11) Amplidiag® *H. pylori*+ClariR för diagnostik av *Helicobacter* från biopsier

Raged El-Ali, Ilona Vereb, Ann Cathrine Petersson.
Klinisk Mikrobiologi, Labmedicin, Region Skåne

Bakgrund: Vid misstanke om terapivikt vid behandling av *H. pylori* kan påvisning av mutationer inom genen för 23S rRNA vara vägledande för ny behandling. Inför byte till nya instrument för amplifiering och DNA-extraktion utvärderades Amplidiag® *H. pylori*+ClariR (Mobidiag) PCR-kit. Detta kit inkluderar samtliga reagenser för samtidig amplifiering av *Helicobacter*, vildtypen (klaritromycin-känslig) och muterad variant av 23S rDNA (resistent), samt intern amplifieringskontroll. Det är CE-IVD-godkänt för att påvisa *H. pylori* i faeces varför data saknas för andra typer av provmaterial.

Material och metoder: Totalt analyserades 98 prov (90 kliniska prover och 8 prov från INSTAND kvalitetsprogram), samt klaritromycin-känslig respektive resistent referensstam. In-house realtids-PCR med FRET-prober och smältpunktanalys på Light Cycler och DNA-extraktion på MagNa Pure LC (Roche) utgjorde referensmetod. För DNA-extraktion utvärderades MagNa Pure 96 (Roche) och EZ1 (Qiagen) med tillhörande extraktionskit. Amplifiering utfördes på CFX96 (Bio-Rad).

Resultat: Analys av referensstammar visade på mycket stark signal vid höga halter av *Helicobacter*-DNA varför angivet amplifieringsprotokoll i tre steg anpassades för att säkerställa identifiering av mycket starkt positiva prover. Efter analys av ett mindre antal prov extraherade på MP96 respektive EZ1, valdes EZ1 för fortsatt arbete. MP96 krävde spädning för att förhindra både inhibition och höga bakgrundkurvor från vildtypen av 23S. Med modifierat protokoll för *H. pylori*+ClariR identifierades samtliga 40 prov som uppvisat positivt utfall med referensmetoden, samt ytterligare 5 prov. Fyra av dessa uppvisade höga Ct-värden vilket kan förklara de negativa resultaten i referensmetoden. Det femte provet hade i ett första test uppvisat svagt positivt utfall i referensmetoden men ingen signal vid omtestning och därmed bedömts som negativt. Muterad 23S identifierades från 13 prov med båda metoder, varav två även gav tydlig signal för vildtypen av 23S med *H. pylori*+ClariR. Med referensmetoden var denna mix vildtyp och muterad variant ej tydlig. Analytisk sensitivitet fastställdes till <103 CFU *H. pylori*/ml.

Konklusion: Amplidiag® *H. pylori*+ClariR med modifierat protokoll och DNA-extraktion med EZ1, med tillhörande reagenser och DNA Tissue kit, möjliggör en snabb och god diagnostik av *Helicobacter* från ventrikelbiopsier. Applikationen ger lättolkade resultat med högre sensitivitet och likvärdig specificitet som befintlig in-house metod.

Utvalt till posterpresentation, tisdagen den 16/5 från kl 18.00

(MI-P12) *Mycoplasma genitalium* and macrolide resistance-associated mutations in the Skåne Region of Southern Sweden 2015

Raged El-Ali (1), Ola Forslund (1), Max Hjelm (1), Raghd El-Ali (1), Annika Johnsson (2), Carina Bjartling (2).

(1) Department of Laboratory Medicine, Division of Medical Microbiology, Lund University, Skåne Laboratory Medicine, Lund, Sweden (2) Centre for Sexual Health, Skåne University Hospital, Sweden

Mycoplasma genitalium is a sexually transmitted infection ordinarily treated with azithromycin. Emerging resistance to macrolide is linked to mutations in 23S rRNA gene. We analyzed the frequency of such mutations of *M. genitalium* isolates from patients that were symptomatic and from sexual partners of symptomatic individuals, from October to December of 2015, in the Skåne Region of Sweden. Mutations were analyzed by the use of DNA-sequencing. Overall, 11.9% (145/1311) and 17.0% (116/704) of females and males were positive for *M. genitalium*, respectively. Macrolide resistant mutations were detected in 13% (31/239) of *M. genitalium* isolates from first-test patient samples. Twenty-one (8.7%) and ten (4.2%) of the isolates had point mutations of the 23S-gene at position 2072 and 2071, respectively. Simultaneous finding of two different *M. genitalium* isolates were detected in two cases. In summary, we found a relatively low rate of macrolide-resistant *M. genitalium* in the region of Southern Sweden.

Utvalt till posterpresentation, tisdagen den 16/5 från kl 18.00

(MI-P13) 16S sekvensering med NGS

Lina Guerra (1), Martin Vondracek (1), Reza Advani (2), Erik Alm (2), Mattias Mild (2).
(1) Klinisk Mikrobiologi, Karolinska Universitetssjukhuset, Stockholm. (2) Avdelningen för Mikrobiologi, Folkhälsomyndigheten, Solna.

16S-sekvensering är en tidskrävande metod som utförs på Klinisk Mikrobiologi, Karolinska Universitetssjukhuset i Solna för att bestämma vilken eller vilka bakterier som finns i ett kliniskt prov eller isolat. I dag utförs 16S-analysen med Sangersekvensering vilket begränsar metoden till att hitta 1-3 dominerade patogener samt kräver stora resurser på laboratoriet. I ett samarbetsprojekt mellan Klinisk Mikrobiologi och folkhälsomyndigheten har 202 kliniska prov parallellkörts med Sangerbaserad 16S-sekvensering och NGS (Next Generation Sequencing)- ampliconbaserad 16S-sekvensering. Proven har inkommit till Karolinska Universitetslaboratoriet där DNA extraherats. Därefter har provet delats och analyserats med Ion Torrent- baserad NGS-teknik samt Sangerbaserad rutindiagnostik. Data från NGS-analysen har genomgått bioinformatisk analys och presenterats i ett format kallat "krona" där varje prov representeras av en tårta där fynden delas in i tårtbitar. Dessa resultat har därefter skickats tillbaka till klinisk mikrobiologi där fynden värderats och jämförts med rutinanalysen. Resultatet visar generellt god överensstämmelse mellan NGS-teknik och Sangersekvensering. I flera fall (7 prov) hittas flera fynd med NGS-teknik där Sangersekvensering endast hittar ett fynd. Dessutom hittas flera fynd från negativa Sangersekvenseringar med NGS-teknik (18 prov). Totalt sett visar parallellkörningarna att NGS ger en högre kapacitet, effektivare flöde och bättre kvalitet jämfört med rutinbaserad Sangersekvensering.

Utvalt till posterpresentation, tisdagen den 16/5 från kl 18.00

(MI-P14) Bioriskgruppen på Klinisk mikrobiologi, Karolinska Universitetslaboratoriet. En stödfunktion vi inte klarar oss utan

Aina Iversen, Eva Stenehall-Lindberg, Volkan Özenci, Maria Rotzén Östlund, Niklas Björkström.
Klinisk mikrobiologi, Karolinska Universitetslaboratoriet, Solna och Huddinge

Arbete med biosäkerhetsfrågor är en av hörnstenarna i kontinuerligt kvalitetsarbetet vid laboratorier som hanterar smittsamma mikroorganismer. Som reaktion till Ebolautbrottet bildades i augusti 2014 Bioriskgruppen vid Klinisk mikrobiologi, Karolinska Universitetslaboratoriet. Vi fick i uppdrag av klinikledningen att utgöra en stödfunktion gällande arbetsrutiner, riskbedömningar och kontinuerlig kunskapsförmedling kring biosäkerhetsfrågor inom kliniken. Gruppen är sammansatt av representanter från olika yrkesgrupper och funktioner och innehar både bakteriologisk och virologisk kompetens. Som del i arbetssättet adjungeras vid behov specialkompetens från t.ex. Vårdhygien och TB-lab. Gruppen träffas regelbundet var tredje månad för att stämma av pågående arbete och diskutera nytillkomna frågor från verksamheten. Akuta frågor hanteras löpande oberoende av dessa möten. En gång per år rapporterar Bioriskgruppen sitt arbete till chefsgruppen, där även klinikledningen ingår. Arbetsuppgifter och progress dokumenteras i en aktivitetslista och avklarade uppgifter sätts upp i en meritlista. Exempel på arbete och dokumentation som Bioriskgruppen hanterat: •Skyddsföreskrifter •Register över personal som arbetar med riskklass 3 agens •Sanering efter VHF-smittat prov •Hantering av prover med riskklass 3 agens "Fredagsdokumentet" •Generell riskbedömning för gravida •Blankett för riskbedömning i dokumenthanteringsystemet •Riskbedömning för avfall från direkt-PCR på fecesprover •Uppdragsbeskrivning till ST-läkare om att utföra en mikrobiologisk riskbedömning under sin utbildningstid mha blankett för riskbedömning. Efter dryga två år med Bioriskgruppen kan vår erfarenhet sammanfattas med att kontinuerlig information kring biosäkerhetsfrågor är av stor vikt för att fånga upp verkliga risker, få återkoppling på befintlig information som behöver förtydligas, och även hantera oro hos medarbetare som ibland kan vara obefogad. Vi konstaterar att bioriskgruppen fyller ett behov och att det fortfarande finns mycket kvar att göra.

Utvalt till posterpresentation, tisdagen den 16/5 från kl 18.00

(MI-P15) Validering av multiplex viral luftvägsdiagnostik: Allplex™ Respiratory Panel Assays jämfört med Anyplex™ II RV16 och in house RT-PCR för Influenza A/H1N1 och Influenza B/RSV

Christina Öhrmalm (1), Irma De La Cruz(1), Midori Kjellin (1), Anjuman Hyder(1), Sanaz Sharif Jourabchi (1), Kåre Bondeson(1).

(1) Klinisk Mikrobiologi, Institutionen för medicinska vetenskaper, Uppsala Universitet/Akademiska Universitetets sjukhuset

Introduktion Målet med studien var att utvärdera prestanda för viruspanelerna ifrån Allplex™ Respiratory Panel Assays (Seegene) och jämföra med Anyplex II RV16 (Seegene) och två st in house RT-PCR för Influenza A/H1N1 och InflB/RSV. **Metoder** - Allplex består av tre separata viruspaneler och detekterar totalt 19 agens. Panel 1: Infl A (inklusive typning för H3, H1, och H1pdm09), RSV och Infl B. Panel 2: adenovirus, parainfluenza 1, 2, 3 och 4 och enterovirus. Panel 3: coronavirus OC43, NL63 och 228E, rhinovirus och bocavirus. Analysen körs som One-step PCR, vilken tar totalt ca 2 h och 20 min. - Anyplex detekterar samma 16 agens, men typar inte influensa A virus, och är en två-steps-PCR (70 min RT-steg med överföring och efterföljande 3,5 h amplifiering och smältkurveanalys). - InflA/H1N1 och RSV/InflB RT-PCR, här kallad Miniblocket, är våra två One-step in house-analyser, vilka tar totalt ca 2h och 20 min.

Material Konsekutiv studie: Under v.5 och v.15 (2016) analyserades alla inkommande luftvägsprover som beställts på Anyplex och/eller miniblocket även med Allplex. Retrospektiv studie: frysta eluat (-70) för positiva prov för respektive agens analyserades med alla metoderna. 119 st prov analyserades med Miniblocket och Allplex panel 1. 133-165 st prov analyserades med Anyplex och Allplex panel 1, 2, 3.

Resultat Allplex jämfört med miniblocket visade hög specificitet 99-100% för Infl A, Infl B och RSV och en sensitivitet på 78% (Infl B) och 100% (Infl A och RSV). Allplex jämfört med Anyplex visade att specificiteten var hög för alla agens: Infl A, Infl B, RSVA och RSVB 99-100% med ett konfidensintervall (95% CI) på 97-98%. Övriga virus visade en specificitet på 88%-100% med 95% CI på 54%-98%. Sensitiviteten varierade beroende på tillgång av antalet positiva prov. Infl A, Infl B, RSVA och RSVB visade en hög sensitivitet på 81%-100% med ett 95% CI på 54-89%. Övriga virus som AdV, PIV1, PIV2, MPV, BoV, RV och CoV OC43 visade en sensitivitet på 81%-100% med ett 95% CI på 42%-71%. EV, PIV3, PIV4, CoV NL63 och CoV 229E hade en sensitivitet på 50-100% med ett lågt 95% CI på 10-35% pga få positiva prover. Allplex detekterade Enterovirus D68, vilket Anyplex inte kunde.

Diskussion Valideringen bekräftade att Allplex kan detektera Enterovirus D68 samt att metoden ger en tidsvinst pga one-step PCR, kortare cyklingsprogram, samt färre hands-on moment jämfört med Anyplex. Slutsatsen är att både specificitet och sensitiviteten var hög med Allplex ,för de agens där tillräckligt antal positiva prover fanns för att kunna ge en tillräckligt hög konfidens, både i jämförelse med Miniblocket och Anyplex.

Utvalt till posterpresentation, tisdagen den 16/5 från kl 18.00

(MI-P16) HPV genotypning med Anyplex II HPV 28

Shaman Muradrasoli(1), Susanna Falklind Jerkerus(1), Eva Hell(1), Hamzah Safari(1), Anna Karlsson(1).

(1) *Klinisk mikrobiologi, Karolinska Universitetsjukhuset, Huddinge*

Genotypning av Humana Papilloma Virus (HPV) utförs som rutinanalys. Över 100 olika genotyper har identifierats och flertalet klassificeras som lågrisk-HPV och kan bl a orsaka benigna genito-anala kondylom (tex HPV 6 och 11). 14 genotyper klassificeras som högrisk-HPV (HR-HPV tex HPV16 och 18) och dessa kan i kombination med andra faktorer orsaka uppkomst av cervixcancer. HPV-typning på cytologprover är tillförlitlig och har i ett flertal studier visat god överensstämmelse med typning av biopsier. I denna validering har multiplex RT-PCR baserande Anyplex II HPV (Seegene) jämförts med Papillocheck (Greiner bio-one). Papillocheck är den DNA-array metod som idag används för rutinanalys. Papillocheck bygger på amplifiering av E1 regionen av HPV med hjälp av specifika PCR-primrar i ett första steg följt av en hybridisering av PCR-produkterna till ett array-chip för detektion av 24 genotyper. Anyplex II HPV kan detektera 28 olika HPV typer och bygger på multiplex PCR där detektionen sker med hjälp av smältpunktsanalys. Retrospektiva prov från rutindiagnostiken (n=74) samt WHO's panelprover (n=43) extraherades med Bio-Robot M48 och analyserades parallellt med Papillocheck och Anyplex II. Av de totalt 74 proven visade 70 överensstämmande genotyp. Papillocheck detekterade 4 högrisk-HPV typer (HR-HPV 33, 51, 56, 68) som Anyplex missade. Däremot detekterade Anyplex II högrisk-HPV typ 16 samt typ 18 som inte påvisades med Papillocheck. I panelproverna missade Anyplex II en högrisk-HPV typ (HR-HPV 45) vilket antas kunna bero på lågt kopietal. Resultatet visade hög grad av överensstämmelse (94,6%) mellan Papillocheck och Anyplex II gällande klinisk sensitivitet och specificitet. Analytisk sensitivitet och specificitet verifierades med panelprover, innehållande prov med låga såväl som höga kopietal, vilka samtliga var jämförbara mellan de två systemen.

Utvalt till posterpresentation, tisdagen den 16/5 från kl 18.00

(MI-P17) Automatiserad biobankning av serumprover

Sven Erasme (1), Gordana Bogdanovic (1), Ingrid Lind (1).

(1) *Klinisk mikrobiologi, Karolinska Universitetslaboratoriet, Stockholm*

På serologisektionen, klinisk mikrobiologi, Karolinska Universitetslaboratoriet, hanteras årligen ca 120 000 serumprover. Samtliga prover biobankas efter avslutad analys (Quantiferon undantaget) och ingår i Karolinskas biobank. Infrysna kliniska serumprover används för diagnostik, metodutveckling och forskning. I nuläget är lagringstiden 10 år i -20°C. Korttidsförvaring (1-5 år) sker i lokaler för klinisk mikrobiologi medan långtidsförvaring (6-10) år sker på satellitfryslager. Under 2015-16 upphandlades och implementerades en pipetteringsrobot (Starlet, Hamilton) för att automatisera överföringen av serum från primärrör till arkivrör. Fördelarna är ökad spårbarhet, minskad risk för provförväxling, färre monotona arbetsuppgifter och tidsvinst. Den automatiserade metoden används för 5 ml serumrör med gel. Starlet överför upp till 1,6 ml till 2 ml arkivrör med skruvlock. Dödvolymen i Starlet är ca 300 µl. I de fall då liten serumvolym finns i primärröret överförs även dödvolymen till arkivröret, men då krävs manuell hantering. Den automatiserade överföringen av serum till arkivrör fungerar väl och 100 provrör tar cirka 30 minuter i Starlet. Dagligen hanteras cirka 500 serumprov på lab i det automatiserade biobanksflödet. Manuella moment som kvarstår i processen är etikettering av arkivrör samt påkorkning. I framtiden är målsättningen att minska den manuella hantering ytterligare. Automatisk på- och avkorkning skulle förenkla arbetet. För att frångå manuell etikettering av arkivrör krävs byte från dagens separata 2ml arkivrör till färdigmärkta rör med 2D-koder i botten i 96-hålsformat. En övergång till 2D-koder innebär att laboratoriedatasystemet (LIS) och laboratoriepersonal måste hantera både 2D-kod och dagens provID-märkning. Ytterligare framtida förbättring är att beräkna den överförda volymen och lagra det i LIS. Arbetet ovan är utfört i samarbete med Stockholms medicinska biobank (SMB). Ett större pågående arbete inom Karolinska Universitetslaboratoriet är införskaffande av ett autofryssystem. Det är ett omfattande projekt som involverar SMB samt flera kliniker på Karolinska Universitetslaboratoriet.

Utvalt till posterpresentation, tisdagen den 16/5 från kl 18.00

(MI-P18) Verifiering av Cobas 8000, e602, för serologi

Mikael Ström, Jenny Ahlqvist.

Karolinska Universitetessjukhuset Klinisk Mikrobiologi

Verifiering av Cobas 8000, e602, för serologi Bakgrund Snabb och tillförlitlig diagnostik av infektionssjukdomar är en viktig förutsättning för effektiv sjukvård och idag finns ett stort antal automatiserade plattformar. Inför byte från Abbot Architect och PRISM till Roche Cobas 8000, e602 på Klinisk mikrobiologi, Karolinska har en metodverifiering genomförts för följande agens: Samtliga Hepatit B markörer inklusive HBsAg kvant, HCV-Ak, Anti-HAV, HAV IgM, HIV1/2 ag/ak, HTLV I/II-ak, Syfilis IgG och IgM, Rubellavirus IgG samt CMV IgG. Verifieringen har genomförts för att säkerställa att metoderna håller utlovad och förväntad kvalitet. Material/Metod Verifieringen har genomförts med avseende på 4 olika parametrar: I. Blodgivarscreening: 500 nya givare testades på 6 analyser som ingår i screeningen: HBsAg, HBc-ak, HCV-ak, HIV1/HIV2 ag/ak, HTLV-I/II och syfilis IgG & IgM. Analyserna har fördelats jämnt över 4 olika moduler. II. Diagnostikprover: 30 patientprover inkluderande 20 positiva och 10 negativa. De positiva proven har valts utifrån jämn spridning på tidigare resultatnivåer. III. Mätosäkerhet: 5 replikat har analyserats under 5 dagar på en mätcell för att bestämma metodens totala imprecision. IV. Split Sample: För att verifiera en metod över alla mätceller och studera variationen mellan mätceller har en serumpool från diagnostiken analyserats i triplikat på alla mätceller. Resultat Resultaten av analyserna på blodgivare är väl överensstämmande med nuvarande metoder. Ett avvikande resultat på HBc-Ak, ett på HCV och tre för HIV uppvisades. För HBc-Ak finns inget konfirmationstest, HCV uppvisade en falsk reaktivitet på PRISM och HIV uppvisar en falsk reaktivitet på PRISM och två falskt reaktiva på Cobas. Equalis blodsmittepanel identifierades korrekt med Cobas I resultatet för de diagnostiska proven utmärker sig analyserna för hepatit B. Tre kroniker som varit HBe-Ak negativa i Architect blir positiva i Cobas. För HBeAg ses omvänt en negativ i Cobas som tidigare fallit ut positivt i Architect. Cobas ser därmed ut att ha något högre känslighet för Hbe-Ak, men något lägre för HBeAg. Rubellavirus IgG-Ak ger 5 positiva resultat som tidigare varit negativa i Architect och ett prov visar omvänt resultat. Variationer mellan olika immunoassays för rubella är väl dokumenterade i litteraturen. Data för mätosäkerhet och split sample visar med enstaka undantag på CV under 6% och i många fall så lågt som 2-3%. Instrumentvariationen kan således konstateras var mycket låg. Slutsats Verifieringen av metoder på Cobas 8000, e602, ger överlag en mycket god överensstämmelse med tillverkarens angivna specifikationer och för de flesta analyser mycket god samstämmighet med tidigare metoder på Architect och PRISM. Övan verifierade metoder kommer att tas i bruk för rutindiagnostik på patientprover och blodgivare.

Utvalt till posterpresentation, tisdagen den 16/5 från kl 18.00

(MI-P19) Utvärdering av Bio-rad Geenius HIV 1/2 supplemental assay gentemot INNO-LIA HIV-I/II Score för att skilja mellan HIV-1, HIV-2 och HIV-1/2 dubbelinfektion i en högendemisk population

Jacob Lindman (1), Bo Langhoff Hønge (2,3,4), Christian Erikstrup (4), Hans Norrgren (1), Fredrik Månsson (5) för Bissau HIV Cohort Study Group och SWEGUB CORE Group.

1 Department of Clinical Sciences Lund, Division of Infection Medicine, Lund University, Lund, Sweden 2 Bandim Health Project, Indepth Network, Bissau, Guinea-Bissau, 3 Department of Infectious Diseases, Aarhus University Hospital, Denmark 4 Department of Clinical Immunology, Aarhus University Hospital, Denmark 5 Department of Clinical Sciences, Infectious Diseases Research Unit, Lund University, Malmö, Sweden

Det är viktigt att kunna skilja mellan HIV-1 och HIV-2 för att kunna välja rätt antiretroviral behandling. Detta eftersom HIV-2 är naturligt resistent mot icke-nukleosid RT-hämmare (NNRTI) och enfuvirtid. Det är även viktigt ur ett patientperspektiv då HIV-2 har ett mildare förlopp jämfört med HIV-1 och vi har i tidigare studier visat att för patienter som är dubbelinfekterade med HIV-1 och HIV-2 tar det ungefär 50 % längre tid att utveckla AIDS jämfört med dem som enbart är HIV-1-infekterade. Geenius har tidigare utvärderats mot INNO-LIA men aldrig i en studiepopulation med hög prevalens av HIV-2 och HIV-1/2 dubbelinfektion. Vi har i denna studie jämfört INNO-LIA med Geenius på ett patientmaterial från Guinea-Bissau som globalt har högst prevalens av HIV-2 och HIV-1/2 dubbelinfektion. Plasmaprover från 131 obehandlade HIV-infekterade individer valdes ut retrospektivt från "the Bissau HIV Cohort" i Guinea-Bissau. Dessa analyserades med INNO-LIA och Geenius avseende förekomst av HIV-1 och HIV-2 antikroppar. Geenius utfördes både manuellt av två oberoende avläsare, maskinellt med hjälp av avläsningsenhet/dator från Bio-rad samt maskinellt tillsammans med manuell tolkning. Kappa-statistik användes för att utvärdera Geenius gentemot INNO-LIA. Av de 131 inkluderade patienterna var 95 kvinnor. Medianåldern var 37 år (kvartilavstånd 30-46). Mediannivån av CD4+ celler var 245 (kvartilavstånd 126-433). INNO-LIA identifierade 63 HIV-1, 36 HIV-2 och 32 HIV-1/2 dubbelinfekterade patienter. Maskinell avläsning tillsammans med manuell tolkning av Geenius gav bäst resultat i jämförelse med INNO-LIA (Kappa; 0.90, överensstämmelse 93.9 %). Maskinell avläsning (överensstämmelse 92.4 %) och manuell avläsning (överensstämmelse 93.1 % [Avläsare A] och [Avläsare B]) gav likvärdiga resultat. Vi har utvärderat Geenius gentemot INNO-LIA och visat att resultaten stämmer väl överens i en population med hög förekomst av HIV-2 och HIV-1/2 dubbelinfektion både vid maskinell och manuell tolkning. Bäst resultat gav en kombination av maskinell avläsning och manuell tolkning.

Utvalt till posterpresentation, tisdagen den 16/5 från kl 18.00

(MI-P20) Utvärdering av VirClia Borrelia IgM/IgG för detektion av serumantikroppar hos patienter med Neuroborrelios.

Kerstin Malm (1), Marcus Johansson (2), Oskar Ekelund (3), Cecilia Jendle-Bengtén (4), Martin Sundqvist (1)

(1) Laboratoriemedicinska kliniken, Klinisk Mikrobiologi, Universitetssjukhuset, Örebro, (2) Klinisk Mikrobiologi, Länssjukhuset Kalmar, (3) Klinisk Mikrobiologi, Region Kronoberg (4) Klinisk Mikrobiologi, Centralsjukhuset, Karlstad

Bakgrund: Diagnostik av neuroborrelios lutar sig på flera ben. Klinisk bild, exposition för Borrelia, cellstegring i likvor, påvisning av Borreliaspecifika antikroppar i likvor och påvisning av Borreliaantikroppar i serum. Vircell har lanserat en test för Borreliadiagnostik som kan analyseras i ett enkelt format i VirClia instrumentet. Syftet med det aktuella projektet var att värdera VirClia i förhållande till andra serologiska tester hos patienter med positiv Neuroborrelios test.

Metod: Serumprover från 103 patienter som tidigare haft positiv indexberäkning för antingen IgG eller IgM med de deltagande laboratoriernas ordinarie tester analyserades med VirClia Borrelia IgG/IgM och resultaten jämfördes med laboratoriernas egna serologiska resultat Oxoid/Thermo Fischer (n=59), Liaison n=19, Euroimmun n=19 och Immunetics C6=10. Resultaten sammanställdes och jämfördes baserat på företagets definierade cut-off gränser. Både positiva och gränsvärdes-resultat betraktades som positiva.

Resultat: Totalt detekterade VirClia testen antikroppar i serum hos 93/103 (91 IgG och 39 IgM) av patienterna med tidigare påvisad neuroborrelios. Bland de 59 proverna tidigare analyserade med Oxoid/Thermo Fischers test så detekterade VirClia IgG hos 86% att jämföra med 48% med Oxoid/Thermo Fischer. Motsvarande andel för IgM med dessa tester var 42% och 46%. Bland de 19 prover som analyserats med Euroimmuns test var motsvarande siffror för IgG 95% (VirClia) vs 100% (Euroimmun) och för IgM 42% resp 47%. Samtliga prover tidigare analyserade med C6 var positiva i denna test och för IgG med VirClia. Alla prover var inte analyserade med Både IgM och IgG med Liaison varför ingen jämförelse gjordes mot dessa annat än på total nivå.

Konklusion: I detta material av serumprover från patienter med konfirmerad neuroborrelios baserat på positivt Index för IgM eller IgG så uppvisade VirClia en högre känslighet avseende IgG än Oxoid/ThermoFischers test medan IgM detektionen var något mindre känslig. Avseende IgG uppvisade VirClia jämförbar prestanda med Euroimmun och C6 medan detektionen av IgM hade något sämre känslighet. Sammanfattningsvis uppvisade VirClia Borrelia IgM/IgG i detta material en jämförbar prestanda med Euroimmun och C6 för serologisk diagnostik av patienter med neuroborrelios och en bättre prestanda än Oxoid/Thermo Fischers test.

Utvalt till posterpresentation, tisdagen den 16/5 från kl 18.00

(MI-P21) Seroprevalens av borreliaantikroppar hos blodgivare i Region Örebro Län

Kerstin Malm (1), Marcus Johansson (2), Oskar Ekelund (3), Cecilia Jendle-Bengtén (4), Martin Sundqvist (1)

(1) Laboratoriemedicinska kliniken, Klinisk Mikrobiologi, Universitetssjukhuset, Örebro, (2) Klinisk Mikrobiologi, Länssjukhuset, Kalmar, (3) Klinisk Mikrobiologi, Region Kronoberg, (4) Klinisk Mikrobiologi, Centralsjukhuset, Karlstad

Bakgrund: För tolkning av serologiresultat är det viktigt att känna till i vilken utsträckning antikroppar kan detekteras hos befolkningen i stort. Vid borreliadiagnostik är detta av särskild vikt då dessa prover erfarenhetsmässigt till en stor del tas på mycket svag klinisk misstanke. Syftet med det aktuella projektet har varit att med fem olika serologiska metoder bedöma förekomsten av borreliaantikroppar i en insamlad provpanel av blodgivare i Region Örebro län.

Metod: Serumprover från 99 blodgivare i fördelade på olika åldersgrupper (18-30 n=20, 31-40 n=20, 41-50 n=20, 51-60 n=19 och 61- n=20) samlades in på Transfusionsmedicin vid Universitetssjukhuset i Örebro under november/december 2016. Samtliga prover analyserades avseende Borrelia IgG/IgM med tester från följande tillverkare: VirClia (Örebro), Oxoid/Thermo Fischer (Örebro), Liaison (Karlstad), Euroimmun (Växjö/Karlskrona) och Immunetics C6 (Kalmar). Resultaten sammanställdes och jämfördes med utgångspunkt från företagets definierade cut-off gränser.

Resultat: IgG antikroppar detekterades (positivt/gränsvärde) hos 16% respektive 4% med VirClia, 7%/0% med Oxoid/Thermo Fischer, 19%/1% med Liaison och 15%/0% med Euroimmun. Motsvarande frekvens av IgM antikroppar var 6%/4% med VirClia, 5%/3% med Oxoid/Thermo Fisher, 13%/1% med Liaison och 9%/0% med Euroimmun. C6 testen var positiv hos 21% av blodgivarna. Minst 3 av 4 kommersiella tester uppvisade samstämmigt positivt/gränsvärdesresultat avseende IgG hos 16% av blodgivarna. Motsvarande siffra för IgM var 5%. Positivitet i C6 motsvarades i 71 % av fallen av IgG-positivitet i minst 3 av 4 andra tester. Motsvarande siffra för IgM var 4 %.

Konklusion: Vi undersökte seroprevalensen avseende Borreliaantikroppar bland Blodgivare i Örebro län. Konsensusresultatet visar på en seroprevalens avseende IgG på 16% och IgM på 5%. Oxoid/Thermo Fischers test var den enda som tydlig skiljde sig från de övriga och visade tydligt lägre seroprevalens avseende IgG.

Utvalt till posterpresentation, tisdagen den 16/5 från kl 18.00

(MI-P22) Verifieringsupplägg, genomförande och utfall för QuantiFERON®-TB Gold Plus

Dina Solomon, Lovisa Odén, Anette Bergman, Robert Dyrdak, Ingrid Lind, Sven Erasmie, Gordana Bogdanovic, Jenny Ahlqvist, Karin Jung .

Klinisk mikrobiologi, Karolinska Universitetslaboratoriet, Stockholm

Bakgrund: QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT-Plus, Qiagen) är ett in vitro-diagnostiskt test för indirekt diagnostik av latent infektion med *Mycobacterium tuberculosis* (TB). Hepariniserat helblod inkuberas med TB-associerade peptidantigen, vilket hos patienter med latent infektion stimulerar T-cell-medierad produktion av interferon-gamma (IFN- γ). Koncentrationen av IFN- γ i blodet kvantifieras sedan med Enzyme Immunoassay (EIA)-teknik. QFT-Plus är en uppdaterad version av föregångaren QuantiFERON®-TB Gold. Det som skiljer de två testerna åt är fördelningen på peptidantigen i provtagningsrör. QuantiFERON®-TB Gold använder endast ett TB-rör innehållande en blandning av peptidantigen som simulerar ESAT-6-, CFP-10- och TB7.7(p4)-protein, medan peptidantigener för QFT-Plus fördelas på två provtagningsrör; TB1-röret (peptider från ESAT-6 och CFP-10) är ämnat att framkalla cellmedierat immunsvår från CD4+ T-hjälparlymfocyter, och TB2-röret (peptider från ESAT-6, CFP-10 samt ytterligare ospecificerade peptidantigener) är ämnat att framkalla cellmedierat immunsvår från cytotoxiska CD8+ T-lymfocyter. QFN-Plus ska således kunna särskilja immunologisk respons och ökar specificiteten jämfört med QuantiFERON®-TB Gold.

Metod/Resultat: 49 individer rekryterades från (a) blodgivare (n=10), (b) patienter med aktiv tuberkulos (n=8) och (c) patienter under utredning för latent tuberkulos (n=31) . Individerna som ingick i verifieringen lämnade 9 ml blod i ett Li-Heparinrör (Vacuette, Greiner). Blodet fördelades på totalt sju QFT-rör vid ankomst till lab, 4-rörset för QFT-Plus samt 3-rörset för det utgående QFT-Gold. Den preanalytiska hanteringen av provmaterialet blev därmed samstämmigt. Analysen utfördes automatiserat på EVOLyzer (Tecan) och analysresultat erhöles genom externt beräkningsprogram (TB-Gold/QFN-Plus) (Qiagen), ett program per uppsättning rör. Extern driftkontroll för IFN- γ analyseras på varje platta. Mellanserievariationen utvärderas genom att ett positivt patientprov analyseras en gång per dag under fyra dagar. Inomserievariationen utvärderas genom att ett positivt patientprov analyseras i triplikat på samma platta. Resultaten visar på god överrensstämmelse mellan de två testerna för blodgivare och patienter med aktiv och latent tuberkulos. Inom- och mellanserievariationen resulterar i låg CV% vilket tyder på hög repeterbarhet och reproducerbarhet.

Utvalt till posterpresentation, tisdagen den 16/5 från kl 18.00

(MI-P23) Fler patienter än någonsin med leishmaniasis i Sverige - En retrospektiv studie över tjugo år.

Sara Karlsson Söbirk (1), Malin Inghammar (1), Mattias Collin (1), Leigh Davidsson (2).
1) Avdelningen för Infektionsmedicin, Kliniska Vetenskaper, Lunds Universitet 2) Enheten för Parasitologi och Vattenburen smitta, Avdelningen för Mikrobiologi, Folkhälsomyndigheten

Bakgrund: Leishmaniasis är namnet på sjukdomar orsakade av någon av de humanpatogena encelliga parasitarter som hör till genus *Leishmania*. De är vektorburna sjukdomar, som sprids med fjärilsmyggor i tropiska och subtropiska områden i hela världen. Leishmaniaparasiterna orsakar Kutan Leishmaniasis (CL), Mucocutan Leishmaniasis (MCL) eller Visceral Leishmaniasis (VL). Leishmaniasis är i Sverige importerad sjukdom, och det har inte varit känt hur många fall vi har av Leishmaniasis per år. Sjukdomen är endemisk i flera populära turistmål för svenska resenärer samt i de vanligaste ursprungsländerna för nyanlända till Sverige. Målet med studien var att beskriva Leishmaniasis i Sverige de senaste tjugo åren.

Metod/Material: Fall identifierades genom; 1) En sökning i Socialstyrelsens patientregister 1993-2013, där diagnoskoder rapporterats från slutenvård sedan 1993 och från öppenvård sedan 2001. 2) En sökning i de databaser som SMI/Folkhälsomyndigheten haft 1993-2016. 3) I relevanta fall, sökning på mikrobiologiska kliniker inom respektive landsting i Sverige. Sökningarna inkluderade bl.a. ålder, kön, troligt smittland, sjukdomspresentation, provmaterial, laboratorieresultat inklusive diagnostisk metod och *Leishmania*-art samt remitterande/diagnossättande klinik.

Resultat: 182 laboratorieverifierade fall av leishmaniasis diagnosticerade i Sverige identifierades. Av dessa var 169 CL, 6 MCL, 5 VL, och 1 fall var Post Kala-Azar Dermal Leishmaniasis (PKDL). Vanligaste typningsresultaten var; *L.tropica* 42,3 %, *L.(Viannia)* 18,7 %, *L.major* 17 % och *L.donovani* complex 12,1 %. Vanligaste smittregion var Asien med 100 fall (54,9 %), där flest uppgivit sig blivit smittade i Syrien (28 %), följt av Afghanistan (15,9 %). Trolig smittregion för övriga patienter fördelade sig på Sydamerika (15,9 %), Europa (7,1 %), Afrika (7,1 %), Mellanamerika (5,5 %) och i 8,8% av fallen var smittregion oklar. Diagnostiska prover togs inom alla sjukvårdsregioner. 24,2% av patienterna diagnosticerades i Stockholms sjukvårdsregion. Infektion (54,9 %) och dermatologi (38,5 %) var de vanligaste remitterande klinikerna, men även barnkliniker, hematologikliniker och primärvård skickade diagnostiska prover. Under 2013-2016 har fyra gånger fler fall av leishmaniasis verifierats årligen på Folkhälsomyndigheten (medel 24/år) jämfört med föregående tioårsperiod (medel 5,9/år), och 2016 diagnosticerades fler fall (36 st) än något år sedan 1993.

Konklusion: Leishmaniasis i Sverige ökar kraftigt, patienter söker inom flera specialiteter i hela landet, och har smittats i olika regioner i världen. Kutan leishmaniasis är den vanligaste sjukdomsbilden, infekterande Leishmaniaart varierar. Behov finns av ökad kunskap om leishmaniasis i olika delar av svensk sjukvård för att misstanke ska uppstå, och för att patienter med leishmaniasis ska få möjlighet till rätt diagnos och behandling.

Utvalt till posterpresentation, tisdagen den 16/5 från kl 18.00