

KVALITETSSIKRING OG HARMONISERING AV SVAR- RAPPORTERING AV BAKTERIE- OG SOPP ID VED MALDI-TOF MS

Forfatter: Jørgen Vildershøj Bjørnholt

FORSLAG TIL ANBEFALINGER (RØD SKRIFT = TIL DISKUSJON KONTROVERSIELLE)

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

ANBEFALING 1 – ÅRLIG OPPDATERINGER BIBLIOTEK OG LITTERATURGJENNOMGANG

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

ANBEFALING 2 – IMPLEMENTERING AV TAKSONOMISKE ENDRINGER

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

ANBEFALING 3 – TIDSRAMMER OG VALIDERING AV ENDRINGER

- Ikke innarbeid foreslåtte taksonomiske endringer i laboratoriet tidligere enn 1 år etter publiseringsdatoen. Forslag om nye arter må være validert dersom de er publisert utenfor IJSEM. Artsforslag kan også være ugyldige eller et subjektivt synonym for en tidligere publisert art.
- For klassifisering er det viktig å huske at det ikke finnes regler som for bakterienomenklatur. Aksept er basert på bruk av det vitenskapelige miljøet, som er avhengig av dataene som presenteres for den foreslåtte klassifiseringsendringen.
- Klassifiseringsendringer foreslått for vanlige eller viktige infeksjonssykdomsgrupper bør overvåkes nøye jamfør anbefaling 2.

ANBEFALING 4 – BRUK AV NY NOMENKLATUR OG DOKUMENTASJON

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

ANBEFALING 5 – KOMMUNIKASJON MED KLINISK PERSONALE

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

BAKGRUNN OG AVGRENSNING

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

Identifikasjon av bakterier med MALDI-TOF MS er siden introduksjonen i 2007/8 blitt den vesentligste identifikasjonsmetode fra kultur i kliniske mikrobiologiske laboratorier. Det er tallrike publikasjoner som har validert metoden vs. tradisjonell og genotypisk ID (1). Metoden stiller «krav» til (i) kvaliteten på

prøvepreparering/oppsett, (ii) vurdering av identifikasjon gitt/som funksjon av referansedatabase (spektre) inkludert tolkning av nært «beslektede» spektre, (iii) entydig svar til kliniker som ivaretar klinisk relevans av identifikasjonen gitt stor oppløselighet av MALDI-TOF MS og (iv) utvikling/endringer av taksonomisk nomenklatur og klassifikasjon. Dette innlegg tar primært for seg utfordringer og nødvendige prosedyrer knyttet til punktene (ii), (iii) og (iv), mens krav til kvalitet (i) er omtalt i annet sammendrag.

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

DIAGNOSTISKE MALDI-TOF MS DATABASER

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

Kvalitet og omfang av referanse databaser(biblioteker)

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

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

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

Nært beslektede spektrere (Matching hints (Bruker))

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

TAKSONOMI – NOMENKLATUR NYE TAXA (SPECIES) OG ENDRET KLASSIFIKASJON

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

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

Roses are red

I think, "What the hell?"

Enterobacter aerogenes

Is now Klebsiella

«Unknown author»

For den kliniske mikrobiolog er det imidlertid viktig å være oppdatert på endringer i nomenklatur/ klassifikasjon da merkelappen vi setter på agens til en infeksjon (genus og species) er viktig for tydelig kommunikasjon med leger og andre om aktuelle sykdomsbilde, prognose, behandling, utbrudds-håndtering og "nye" syndromer.

Utfordringene som den moderne taksonomi skaper for den kliniske mikrobiolog er ikke ny. Det er dessverre ikke lengre tidsskrifter som adresserer dette systematisk, men det er tidligere av en konsensus/diskusjonsgruppe publisert tiltak som det enkelte laboratorium kan følge for å bøte på dette i Infectious Diseases (5). En senere oppdatering er gjort av Janda JM (6). Gruppen og Janda-oppdateringen foreslår en rekke tiltak/punkter/retningslinjer for hvordan det klinisk mikrobiologiske laboratorium skal

håndtere denne utfordringen. Denne anbefaling er ikke blitt mindre relevant og kan inkludere bruk av MALDI-TOF ID. Punktene er presentert tabellarisk i Tabell 1, hvor kommentarer rettet mot norske forhold og hensynet til MALDI-TOF ID er føyd til.

Tabell 1. Tilpasset etter Janda JM (6)

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

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

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

PRAKTISK HÅNDTERING AV ENDRET TAKSONOMI/KLASSIFIKASJON

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

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

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

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

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

Oversikt tolkning og besvarelse av bakterier ID med Malditof i henhold til consistency og matching hints (metode begrensninger). I nedenstående tabell er det kun anført situasjoner hvor tiltak er nødvendige. ID med score > 2, consistency A og ingen matching hints kan besvares uten ytterligere tiltak. Merk unntak for spp. men få < 3 MSP'er.		
<i>Species (VERSJON 13)</i>	<i>Unilab svar (Unilabkode)</i>	<i>Matching hint (ev. komm.)</i>
<i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> <i>Acinetobacter lactucae</i> <i>Acinetobacter nosocomialis</i> <i>Acinetobacter pittii</i> <i>Acinetobacter seifertii</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i> complex om en ikke får log-score > 2 og consistency A etter ekstraksjon. Vurder HGS om viktig klinisk isolat (utbrudd). Tilføy kommentar: «Tilhører <i>Acinetobacter baumannii</i> komplekset» om det svares ut på species nivå.	Member of the <i>Acinetobacter baumannii</i> complex. Extraction must be performed to permit reliable species identification
<i>Actinotignum sanguinis</i> <i>Actinotignum schaalii</i> (Synonym of <i>Actinobaculum schaalii</i>).	<i>Actinotignum schaalii</i> Fast kommentar: Masse-spektrometrisk identifikasjon kan en ikke skjelne mellom <i>A sanguinis</i> og <i>A schaalii</i> ??	Species <i>sanguinis</i> / <i>schaalii</i> of the genus <i>Actinotignum</i> have very similar patterns: Therefore, distinguishing their species is difficult. Synonym of <i>Actinobaculum schaalii</i> . Species <i>sanguinis</i> / <i>schaalii</i> of the genus <i>Actinotignum</i> have very similar patterns: Therefore, distinguishing their species is difficult.
<i>Citrobacter freundii</i> <i>Citrobacter braakii</i> <i>Citrobacter gillanii</i> <i>Citrobacter murliniae</i> <i>Citrobacter rodentium</i> <i>Citrobacter sedlakii</i> <i>Citrobacter youngae</i>	<i>Citrobacter freundii</i> complex OBS <i>C Sedlakii</i> og <i>C gillanii</i> har ikke kromosomal AmpC?	Is a member of <i>Citrobacter freundii</i> complex. Species <i>braakii</i> / <i>freundii</i> / <i>gillanii</i> / <i>murliniae</i> / <i>rodentium</i> / <i>sedlakii</i> / <i>werkmannii</i> / <i>youngae</i> of the genus <i>Citrobacter</i> have very similar patterns: Therefore, distinguishing their species is difficult.
<i>Enterobacter asburiae</i> <i>Enterobacter bugandensis</i> <i>Enterobacter cancerogenus</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Enterobacter hormaechei</i> <i>Enterobacter kobei</i> <i>Enterobacter ludwigii</i> <i>Enterobacter roggenkampii</i>	Svar ut enkelt spp med score > 2 og consistency A med kommentar «Tilhører <i>Enterobacter cloacae</i> komplekset» ellers <i>Enterobacter cloacae</i> kompleks	Member of <i>Enterobacter cloacae</i> complex
<i>Klebsiella pneumoniae</i> closely related to <i>Klebsiella variicola</i> <i>Klebsiella variicola</i> closely related to <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Svar som <i>Klebsiella pneumoniae</i> med kommentar «Masse-spektrometrisk identifikasjon kan ikke skjelne mellom <i>Klebsiella pneumoniae</i> og <i>Klebsiella variicola</i> » eller	7 phylogrupper i <i>Klebsiella pneumoniae</i> spp komplekset. Biblioteket inneholder kun de to nevnte spp.

	<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp. kompleks.	
<i>Raoultella ornithinolytica</i> <i>Raoultella planticola</i> <i>Raoultella terrigena</i>	Biblioteket har ikke fått med seg reklassifisering som <i>Klebsiella</i> OBS OXY betalaktamase Svar ut med kommentar «Massespektrometrisk identifikasjon kan ikke skjelne mellom <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Raoultella ornithinolytica</i> , <i>Raoultella planticola</i> og <i>Raoultella terrigena</i> .»	<i>Klebsiella oxytoca</i> and species <i>ornithinolytica</i> / <i>planticola</i> / <i>terrigena</i> of the genus <i>Raoultella</i> have very similar patterns: Therefore, distinguishing their species is difficult.
<i>Staphylococcus argenteus</i> / <i>schweitzeri</i>	Kommentar: Tilhører <i>Staphylococcus aureus</i> assosiert kompleks. OBS <i>S. schweitzeri</i> har ukjent klinisk patogenisitetspotensiale (10)	The species <i>Staphylococcus argenteus</i> and <i>Staphylococcus schweitzeri</i> form parts of a "Staphylococcus aureus-related complex" and show similar virulence potential compared to <i>Staphylococcus aureus</i> . Therefore, they should be further evaluated.
<i>Winkia neuii</i> synonym of <i>Actinomyces neuii</i> <i>Winkia neuii</i> ssp <i>anitrata</i> synonym of <i>Actinomyces neuii</i> ssp <i>anitratus</i> <i>Winkia neuii</i> ssp <i>neuui</i> synonym of <i>Actinomyces neuii</i> ssp <i>neuui</i>	Svares ut som <i>Actinomyces neuii</i> med kommentar «Ny nomenklatur <i>Winkia neuui</i> » ev. <i>Winkia (Actinomyces) neuui</i> ,	

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

For identifikasjon av sopp pågår en tilsvarende utvikling, selv om taksonomien er forskjellig og mer kompleks (12, 13). Den hyppigste problemstilling for klinikere er trolig endringer innen gjærings-sopp-taksonomi hvor en

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

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

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

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

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

PROBLEMOMRÅDE 1 -

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

PROBLEMOMRÅDE 2 -

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

PROBLEMOMRÅDE 3 -

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

PROBLEMOMRÅDE 4 -

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

PROBLEMOMRÅDE 5 -

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

REFERANSER

1. Khot PD, Couturier MR, Wilson A, Croft A, Fisher MA. Optimization of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry analysis for bacterial identification. *J Clin Microbiol*. 2012;50(12):3845-52.
2. Wayne LG. International Committee on Systematic Bacteriology: announcement of the report of the ad hoc Committee on Reconciliation of Approaches to Bacterial Systematics. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A*. 1988;268(4):433-4.
3. Janda JM. Proposed nomenclature or classification changes for bacteria of medical importance: taxonomic update 5. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2020;97(3):115047.
4. Oren A, Arahal DR, Göker M, Moore ERB, Rossello-Mora R, Sutcliffe IC. International Code of Nomenclature of Prokaryotes. *Prokaryotic Code (2022 Revision)*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2023;73(5a).
5. Baron EJ, Allen SD. Should Clinical Laboratories Adopt New Taxonomic Changes? If So, When? *Clinical Infectious Diseases*. 1993;16(Supplement_4):S449-S50.
6. Janda JM. Clinical Decisions: How Relevant is Modern Bacterial Taxonomy for Clinical Microbiologists? *Clinical Microbiology Newsletter*. 2018;40(7):51-7.
7. Wyres KL, Lam MMC, Holt KE. Population genomics of *Klebsiella pneumoniae*. *Nature Reviews Microbiology*. 2020;18(6):344-59.
8. Kidd SE, Abdolrasouli A, Hagen F. Fungal Nomenclature: Managing Change is the Name of the Game. *Open Forum Infectious Diseases*. 2023;10(1).
9. Morris ZS, Wooding S, Grant J. The answer is 17 years, what is the question: understanding time lags in translational research. *Journal of the Royal Society of Medicine*. 2011;104(12):510-20.
10. Becker K, Schaumburg F, Kearns A, Larsen AR, Lindsay JA, Skov RL, et al. Implications of identifying the recently defined members of the *Staphylococcus aureus* complex *S. argenteus* and *S. schweitzeri*: a position paper of members of the ESCMID Study Group for Staphylococci and Staphylococcal Diseases (ESGS). *Clinical Microbiology and Infection*. 2019;25(9):1064-70.
11. Lotte R, Lotte L, Ruimy R. *Actinotignum schaalii* (formerly *Actinobaculum schaalii*): a newly recognized pathogen—review of the literature. *Clinical Microbiology and Infection*. 2016;22(1):28-36.
12. Borman AM, Johnson EM. Changes in fungal taxonomy: mycological rationale and clinical implications. *Clin Microbiol Rev*. 2023;36(4):e0009922.
13. de Hoog S, Walsh TJ, Ahmed SA, Alastruey-Izquierdo A, Alexander BD, Arendrup MC, et al. A conceptual framework for nomenclatural stability and validity of medically important fungi: a proposed global

consensus guideline for fungal name changes supported by ABP, ASM, CLSI, ECMM, ESCMID-EFISG, EUCAST-AFST, FDLC, IDSA, ISHAM, MMSA, and MSGERC. *J Clin Microbiol.* 2023;61(11):e0087323.

14. NORM/NORM-VET 2023. Usage of Antimicrobial Agents and Occurrence of Antimicrobial Resistance in Norway. Tromsø / Ås / Oslo 2024. ISSN:1502-2307 (print) / 1890-9965 (electronic)