

**EXPERTISE, PRESTATIONS DE SERVICE ET RELATIONS CLIENTS  
QUALITE DES LABORATOIRES MEDICAUX**

**COMMISSION DE BIOLOGIE CLINIQUE  
COMITE DES EXPERTS**

**EVALUATION EXTERNE DE LA QUALITE  
DES ANALYSES EN BIOLOGIE CLINIQUE**

## **RAPPORT GLOBAL MALDI-TOF 2016**

**ISP/Microbiologie/106**

Expertise, prestations de service et relations clients  
Qualité des laboratoires médicaux  
Rue J. Wytsman, 14  
1050 Bruxelles | Belgique

[www.wiv-isp.be](http://www.wiv-isp.be)

<b>COMITE DES EXPERTS</b>
---------------------------

ISP (secrétariat)	TEL: 02/642.55.22	FAX: 02/642.56.45
Coordinateur d'enquête: Dr. VERNELEN K.	TEL: 02/642.55.29 e-mail: <a href="mailto:kris.vernelen@wiv-isp.be">kris.vernelen@wiv-isp.be</a>	
Remplaçant coordinateur d'enq.: Dr. CHINA B.	TEL: 02/642.53.85 e-mail: <a href="mailto:bernard.china@wiv-isp.be">bernard.china@wiv-isp.be</a>	

Experts:

Dr. BOELENS Jerina	TEL: 093/32.19.69 e-mail: <a href="mailto:jerina.boelens@uzgent.be">jerina.boelens@uzgent.be</a>	FAX: 093/32.36.40
Dr. BOERAS Anca	TEL: 042/24.83.58 e-mail: <a href="mailto:anca.boeras@chc.be">anca.boeras@chc.be</a>	FAX: 042/24.84.73
Dr. CLAEYS Geert	TEL: 09/332.36.45 e-mail: <a href="mailto:geert.claeys@ugent.be">geert.claeys@ugent.be</a>	FAX: 09/332.49.85
Dr. DE BEENHOUWER Hans	TEL: 053/72.42.72 e-mail: <a href="mailto:hans.de.beenhouwer@olvz-aalst.be">hans.de.beenhouwer@olvz-aalst.be</a>	FAX: 053/72.45.88
Dr. DE GHELDRE Yves	TEL: 02/340.41.34 e-mail: <a href="mailto:yves.degheldre@chirec.be">yves.degheldre@chirec.be</a>	FAX: 02/340.41.79
Dr. MAGERMAN Koen	TEL: 011/30.97.40 e-mail: <a href="mailto:koen.magerman@jessazh.be">koen.magerman@jessazh.be</a>	FAX: 011/30.97.50
Dr. SAEGEMAN Veroniek	TEL: 016/34.24.23 e-mail: <a href="mailto:veroniek.saegeman@uzleuven.be">veroniek.saegeman@uzleuven.be</a>	FAX: 016/34.70.10
Dr. VAN ESBROECK Marjan	TEL: 03/247.64.37 e-mail: <a href="mailto:mvesbroeck@itg.be">mvesbroeck@itg.be</a>	FAX: 03/247.64.40
Dr. VERROKEN Alexia	TEL: 02/764.67.32 e-mail: <a href="mailto:alexia.verroken@uclouvain.be">alexia.verroken@uclouvain.be</a>	FAX: 02/764.69.33
Dr. WOESTYN Sophie	TEL: 056/85.58.85 e-mail: <a href="mailto:sophie.woestyn@skynet.be">sophie.woestyn@skynet.be</a>	FAX: 056/85.58.86

Réunion du comité d'experts : 08/09/16

Tous les rapports sont également consultables sur notre site web:

[https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external\\_quality/rapports/fr/rapports\\_annee.htm](https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/rapports/fr/rapports_annee.htm)

**Autorisation de diffusion de rapport:** par Kris Vernelen (Coordinateur d'enquête) le 16/09/16



## Tables des matières

---

Tables des matières .....	3
I. Les échantillons .....	4
II. Les résultats.....	5
M/14235 Streptococcus mitis .....	5
Résultat final.....	6
Résultats techniques obtenus avec l'appareil de Bruker .....	7
Résultats techniques obtenus avec l'appareil de bioMérieux .....	11
M/14236 Actinobaculum schaalii.....	13
Résultat final.....	13
Résultats techniques obtenus avec l'appareil de Bruker .....	14
Résultats techniques obtenus avec l'appareil de bioMérieux .....	15
M/14237 Shigella sonnei.....	17
Résultat final.....	17
Résultats techniques obtenus avec l'appareil de Bruker .....	18
Résultats techniques obtenus avec l'appareil de bioMérieux .....	21
M/14238 Cryptococcus neoformans.....	23
Résultat final.....	23
Résultats techniques obtenus avec l'appareil de Bruker .....	24
Résultats techniques obtenus avec l'appareil de bioMérieux .....	26
M/14239 Staphylococcus aureus .....	27
Résultat final.....	27
Résultats techniques obtenus avec l'appareil de Bruker .....	28
Résultats techniques obtenus avec l'appareil de bioMérieux .....	29

## I. Les échantillons

---

Cinq échantillons lyophilisés ont été envoyés. Les échantillons devaient être reconstitués avec 0.5 ml d'eau distillé et ensemencés sur les milieux de culture appropriés. Après il fallait effectuer l'identification par Maldi-TOF.

L'information concernant les souches reprenait le site de prélèvement:

M/14235: pus oculaire  
M/14236: urine  
M/14237: selles  
M/14238: plaie de peau  
M/14239: hémoculture

L'interprétation des réponses devait être effectuée en fonction du site de prélèvement. Il fallait d'abord introduire le nom du producteur, le type de logiciel et le type d'extraction; ensuite, il fallait introduire un nombre de données en fonction de l'appareil utilisé. Pour les utilisateurs de bioMérieux : le résultat obtenu. Pour les utilisateurs de Bruker: les 3 premiers résultats avec les scores correspondants, si tous les scores donnaient la même identification et la "consistence with score".

Finalement les laboratoires devaient indiquer s'ils transféreraient en routine le résultat au clinicien et, en cas de réponse positive à cette question, quelle était l'identification finale. La dernière question était de savoir si le laboratoire effectuerait des tests complémentaires pour une identification plus ample, pour confirmation,...

**Le but n'était cependant pas d'effectuer ces tests complémentaires : l'identification finale ne devait donc être basée que sur le résultat du Maldi-TOF; il pouvait donc être possible ou même probable qu'un laboratoire réponde de ne pas communiquer le résultat de l'appareil en routine.**

Les germes envoyés étaient:

M/14235: *Streptococcus mitis*  
M/14236: *Actinobaculum schaalii*  
M/14237: *Shigella sonnei*  
M/14238: *Cryptococcus neoformans*  
M/14239: *Staphylococcus aureus*

## II. Les résultats

---

77 laboratoires ont participé à cette enquête: 76 laboratoires cliniques et 1 laboratoire d'une firme; ce dernier n'a pas été pris en compte dans l'analyse des résultats. Tous les laboratoires n'ont pas transmis des résultats pour tous les échantillons.

Certains laboratoires ont quand-même effectué les tests complémentaires pour certains échantillons et ils ont pris en compte ces résultats pour la « réponse définitive, transmise en routine » : certaines réponses sont donc biaisées.

### **M/14235 *Streptococcus mitis***

Nombre de participants : 75 (un laboratoire n'utilise pas de Maldi-TOF pour les pus)

#### **Bruker N = 54**

Logiciel: IVD: 37  
RUO: 11  
Moisissures: 1  
IVD + RUO: 1  
RUO + bioterrorisme: 2  
RUO + bioterrorisme + moisissures: 1  
RUO + bioterrorisme + moisissures + mycobactéries: 1

Extraction: Sans: 42  
Acide formique: 11  
Complet: 1

#### **bioMérieux N = 21**

Logiciel: IVD: 20  
Myla: 1

Extraction: Sans: 18  
Acide formique: 2  
Vitek MS-CHCA: 1

## **Résultat final** (répondu en routine)

### **Bruker**

Pas répondu en routine: N = 30

Répondu en routine: N = 24

#### Réponses fournies

<b>Réponse</b>	<b>N labos</b>
<i>Streptococcus mitis</i>	14
<i>Streptococcus mitis/oralis</i> <sup>1</sup>	1
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6
<i>Streptococcus species</i>	2
<i>Staphylococcus aureus</i>	1
<b>Total</b>	<b>24</b>

<sup>1</sup> Un laboratoire a mentionné que la Maldi-tof ne sait pas faire la distinction entre *S. mitis* et *S. oralis*

### **bioMerieux**

Pas répondu en routine: N = 5

Répondu en routine: N = 16

#### Réponses fournies

<b>Réponse</b>	<b>N labos</b>
<i>Streptococcus mitis</i>	7
<i>Streptococcus mitis/oralis</i> <sup>1</sup>	6
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2
<i>Streptococcus pseudopneumoniae</i>	1
<b>Total</b>	<b>16</b>

<sup>1</sup> Six laboratoires ont mentionné que la Maldi-tof ne sait pas faire la distinction entre *S. mitis* et *S. oralis*

## **Résultats techniques obtenus avec l'appareil de Bruker**

### Laboratoires qui ne fourniraient pas de résultat en routine

1<sup>e</sup> résultat: *S. mitis* N = 28

Score: médiane: 2.250; min: 1.991; max: 2.420

*S. pneumoniae* N = 2

Scores: 2.128, 2.270

2<sup>e</sup> résultat: *S. mitis* N= 23

Score: médiane: 2.190; min: 2.183; max: 2.410

*S. pneumoniae* N= 6

Score: médiane: 2.201; min: 2.004; max: 2.330

*S. oralis* N= 1

Scores: 2.234

3<sup>e</sup> résultat: *S. mitis* N= 22

Score: médiane: 2.197; min: 1.185; max: 2.410

*S. pneumoniae* N= 5

Score: médiane: 2.120; min: 2.001; max: 2.240

*S. oralis* N= 3

Scores: 1.918, 2.200, 2.215

Consistence with score: A: 5

B: 24

C: 1

Laboratoires qui conseillent d'effectuer des tests complémentaires: N = 30

Quels tests:

PCR *S.pneumoniae*

optochine

1. test rapide Dryspot Pneumo Kit 2. test rapide Slidex Pneumo Kit 3. Test de diffusion sur disque avec l'optochine 4. Test de solubilité biliaire.

Optochine, test Dreft

Vitek ID, Optochine pour exclure *S.pneumoniae*

Optochine + ID Vitek + éventuellement test Dreft pour recherche de *Streptococcus pneumoniae*

Disques optochine et bile

optochine pour exclure/confirmer Pneumocoque

optochine

Souche sensible à l'Optochine d'où doute sur l'ID Tests supplémentaires: Pneumoslide et solubilité biliaire

Optochine strep à distinguer de strep mitis. Si l'optochine devient sensible la souche est envoyée au

centre de référence pour vérification et elle est quand-même rapportée.  
Sensibilité à l'optochine, test de Na-désoxycholate (test de solubilité de bile)  
Optochine: S Dryspot pneumo: POS désoxycholate: NEG VITEK: Streptococcus mitis/oralis  
Optochine sur culture et agglutination  
optochine, solubilité biliaire et agglutination sur lame pour exclure un pneumocoque.  
optochine test  
optochine, solubilité biliaire  
Optochine, solubilité biliaire  
optochine +/- test de solubilité biliaire, API strep  
Test de sensibilité à l'Optochine et à l'Oxgall permettant de confirmer la présence d'un Streptococcus pneumoniae contrairement à l'identification donnée par le Maldi-Tof.  
Optochine Oxgall  
Test agglutination Pneumo; souche non revivifiable pour le test !!!  
pneumo slidex et culture avec disque optochine  
Optochine  
Connaissant la mauvaise discrimination du MALDI-TOF MS entre S.pneumoniae et les streptocoques du groupe mitis/oralis, nous réalisons des tests complémentaires pour conclure à l'identification d'espèce: Disque d'optochine sur gélose au sang incubée 24h à 35°C air et test d'agglutination pour identification du Streptococcus pneumoniae (Slidex pneumo-kit).  
- Optochine - Pneumo Slidex - PCR  
optochine (19mm --> sensible) oxgall (16mm --> résistant) agglutination latex pneumocoque (bioMérieux) : Positif Réponse : Streptococcus pneumoniae  
test OPTOCHINE: si résistant on répond S. viridans. Si sensible on effectue une PCR pour une plus ample identification.  
Aspect des colonies + optochine + éventuellement une galerie  
Optochine : sensible (diamètre : 25 mm) Bile : résistant (diamètre : 17 mm)

#### Laboratoires qui répondraient en routine *S. mitis*

1<sup>e</sup> résultat: *S. mitis* N = 14

Score: médiane: 2.275; min: 2.140; max: 2.391

2<sup>e</sup> résultat: *S. mitis* N= 14

Score: médiane: 2.226; min: 2.100; max: 2.369

3<sup>e</sup> résultat: *S. mitis* N= 13

Score: médiane: 2.160; min: 2.013; max: 2.343

*S. pneumoniae* N= 1

Score: 2.171



Consistence with score: A: 5

B: 9

Laboratoires qui conseillent d'effectuer des tests complémentaires: N = 13

Quels tests:

disque d'optochine pour évaluer la sensibilité : souche sensible, ne permet pas d'éliminer Streptococcus pneumoniae - test au désoxycholate : test de solubilité biliaire négatif permettant d'exclure S.pneumoniae. En conclusion : nous rendons S. mitis sur le protocole après avoir effectué ces 2 tests complémentaires

Optochine - agglutination S. pneumoniae (Dry Spot Pneumo)

Typage de la capsule négatif

sensibilité à l'optochine

Test de solubilité biliaire

test d'optochine

solubilité biliaire (négatif)

disque d'optochine (-) solubilité biliaire (-) Plaie oculaire

oxgall optochine sur protocole: seulement pathogène en cas de traumatisme ou ulcère.

Tests complémentaires pour exclure le Streptococcus pneumoniae : - optochine - oxgall - agglutination pneumo

Test à l'optochine; Slidex Pneumo-Kit.

Sensibilité OPTOCHINE: 25 mm Sensible (5% de S. mitis S à l'OPTOCHINE) Sensibilité OXGALL(ROSCO) :

16 mm, pas de solubilité de la capsule dans la bile Slidex pneumo Kit bioMérieux: agglutination (-)

Test de sensibilité à l'optochine -> Si R -> Streptococcus mitis -> Si S -> PCR Streptococcus pneumoniae

Le laboratoire qui répondrait en routine S. mitis/oralis

1<sup>e</sup> résultat: S. mitis

Score: médiane: 2.294

2<sup>e</sup> résultat: S. mitis

Score: médiane: 2.249

3<sup>e</sup> résultat: S. mitis

Score: médiane: 2.229

Consistence with score: B

Le laboratoire n'effectuerait pas de tests complémentaires en routine.

Laboratoires qui répondraient en routine *S. pneumoniae*

1<sup>e</sup> résultat: *S. mitis* N = 4

Score: 1.970, 2.073, 2.172, 2.250

*S. pneumoniae* N= 2

Scores: 2.205, 2.200

2<sup>e</sup> résultat: *S. mitis* N= 3

Scores: 2.028, 2.175, 2.190

*S. pneumoniae* N= 2

Scores: 1.890, 2.190

*S. oralis* N= 1

Scores: 2.169

3<sup>e</sup> résultat: *S. mitis* N= 3

Scores: 2.115, 2.170, 2.190

*S. pneumoniae* N= 2

Scores: 1.880, 2.160

*S. oralis* N= 1

Scores: 2.165

Consistence with score: B: 5

C: 1

Laboratoires qui conseillent d'effectuer des tests complémentaires: N = 6

Quels tests:

optochine

sensibilité à l'Optochine : - si SENSIBLE à l'optochine : Streptococcus pneumoniae - si RESISTANT à l'optochine : Streptococcus mitis

1. Disque d'optochine: la zone est positive 2. Vitek 2 C avec IDGP 3. Dryspot (Oxoid) pneumocoque test rapide

optochine

Désoxycholate

résistance à l'optochine

## **Résultats techniques obtenus avec l'appareil de bioMérieux**

### Laboratoires qui ne fourniraient pas de résultat en routine

Résultat: *S. mitis* N = 3

*S. mitis/oralis* N = 2

Laboratoires qui conseillent d'effectuer des tests complémentaires: N = 4

#### Quels tests:

Identification exacte MalDI = STREPTOCOCCUS MITIS/ORALIS à 99,9% --> Réponse finale sur le protocole = STREPTOCOCCUS MITIS /ORALIS.

Malditof donne: streptococcus mitis/oralis tests complémentaires: -carte vitek - optochine sur gélose au sang

Pneumokit négatif.

optochine donne sensible donc agglutination en test complémentaire

### Laboratoires qui répondraient en routine *S. mitis*

Résultat: *S. mitis* N = 7

Laboratoires qui conseillent d'effectuer des tests complémentaires: N = 2

#### Quels tests:

Vitek MS ne sait pas faire la différenciation entre *S. mitis* et *S. oralis*. Sur de tels échantillons nous n'effectuons pas de différenciation en routine (*S. pneumoniae* est exclu).

Carte Vitek 2 GP

### Laboratoires qui répondraient en routine *S. mitis/oralis*

Résultat: *S. mitis/oralis* : N = 6

Laboratoires qui conseillent d'effectuer des tests complémentaires: N = 3

#### Quels tests:

optochine, coloration de Gram Commentaire à la réponse; flore commensale.

La sensibilité à l'optochine est testée. Vitek MS ne sait pas faire la distinction entre *S. mitis* et *S. oralis* et identifie la souche comme "*Streptococcus mitis / oralis*".

Pas de distinction entre « *S. mitis/oralis* ». Nous le répondons en tant que tel sur le rapport. Pas de tests complémentaires.

Laboratoires qui répondraient en routine *S. pneumoniae*

Résultat: *S. pneumoniae* N = 2

Laboratoires qui conseillent d'effectuer des tests complémentaires: N = 2

Quels tests:

Pastorex Pneumo (Agglutination positif); disque d'optochine (sensible); Incubation sans CO2 pour exclure *Strep. pseudopneumoniae*

Optochine à l'ensemencement

**M/14236 *Actinobaculum schaalii***

Nombre de participants : 75 (un laboratoire n'utilise pas de Maldi-tof pour les urines)

**Bruker** N = 54

Logiciel: IVD: 37  
RUO: 11  
Moisissures: 1  
IVD + RUO: 1  
RUO + bioterrorisme: 2  
RUO + bioterrorisme + moisissures: 1  
RUO + bioterrorisme + moisissures + mycobactéries: 1

Extraction: Sans: 37  
Acide formique: 17

**bioMérieux** N = 21

Logiciel: IVD: 19  
Moisissures: 1  
Myla: 1

Extraction: Sans: 13  
Acide formique: 6  
Complet: 1  
Vitek MS-CHCA: 1

**Résultat final** (répondu en routine)

**Bruker**

Pas répondu en routine: N = 1

Répondu en routine: N = 53

Réponses fournies

<b>Réponse</b>	<b>N labos</b>
<i>Actinobaculum schaalii</i>	52
<i>Actinobaculum</i> species	1
<b>Total</b>	<b>53</b>

## bioMerieux

Pas répondu en routine: N = 12

Répondu en routine: N = 9

### Réponses fournies

Réponse	N labos
<i>Actinobaculum schaalii</i>	2
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	2
<i>Actinomyces meyeri</i>	1
<i>Clostridium tyrobutyricum</i>	1
<i>Echerichia coli</i>	1
<i>Listeria grayi</i>	1
<i>Yersinia enterocolitica</i>	1
<b>Total</b>	<b>9</b>

### Résultats techniques obtenus avec l'appareil de Bruker

#### Le laboratoires qui ne fournirait pas de résultat en routine

1<sup>e</sup> résultat: *A. schaalii* score: 1.94

2<sup>e</sup> résultat: *A. schaalii* score: 1.68

3<sup>e</sup> résultat: *A. schaalii* score: 1.54

Consistence with score: B

Le laboratoire conseille d'effectuer comme test complémentaire une coloration de Gram.

#### Le laboratoire qui répondrait en routine *Actinobaculum* species

1<sup>e</sup> résultat: *A. schaalii* score: 2.14

2<sup>e</sup> résultat: *A. schaalii* score: 1.89

3<sup>e</sup> résultat: *A. schaalii* score: 1.84

Consistence with score: B

Le laboratoire n'effectuerait pas de tests complémentaires en routine.

### Laboratoires qui répondraient en routine *A. schaalii*

1<sup>e</sup> résultat: *A. schaalii* N = 52

Score: médiane: 2.090; min: 1.750; max: 2.431

2<sup>e</sup> résultat: *A. schaalii* N = 52

Score: médiane: 1.987; min: 1.660; max: 2.227

3<sup>e</sup> résultat: *A. schaalii* N = 52

Score: médiane: 1.743; min: 1.415; max: 2.033

Consistence with score: A: 41

B: 11

Laboratoires qui conseillent d'effectuer des tests complémentaires: N = 4

Quels tests:

Coloration de GRAM mettant en évidence des cocco-bacilles GRAM positif

Coloration de GRAM

Gram Catalase

Gram, catalase, test respiratoire, urée, alpha-glucosidase

### **Résultats techniques obtenus avec l'appareil de bioMérieux**

#### Laboratoires qui ne fourniraient pas de résultat en routine

Résultat: *Actinobaculum schaalii* N = 1

*Actinobaculum species* N = 1

*Lactobacillus delbrueckii* N = 1

*Lactobacillus species* N = 1

*Staphylococcus aureus* N = 1

Le *Malditof* n'a pas donné de résultat: N = 7

Laboratoires qui conseillent d'effectuer des tests complémentaires: N = 11

Quels tests:

Bacille Gram négatif non identifié sur Malditof. Tests complémentaires d'identification: Vitek 2 , galerie API ( 32GN, 32 E/NE .etc..)

Coloration de Gram, catalase. La morphologie est suspecte pour *Actinobaculum schaalii*. Envoi à un labo externe pour identification ( Maldi-tof, Bruker ou gène 16s rARN)

Identification biochimique

Le Vitek MS ne donne pas d'identification: "bad spot". Sur base de la coloration de gram, l'uropathogène *Actinobaculum schaalii* doit être exclu. Il ne peut pas être identifié avec la version actuelle de la base de données du Vitek MS. La souche est envoyée à l'UZ Brussel pour identification par maldibiotyper (Bruker)

*Actinobaculum schaalii*: pas encore dans la base de données du VitekMS – il sera repris dans la mise au jour de la base de données que nous recevrons fin de l'année. *Actinobaculum schaalii* est bien dans

la base de données du Vitek.

Coloration de Gram suivi par PCR 16S rARN -> Bacille Gram positif, *Actinobaculum schaalii* (pas dans la base de données)

Le Maldi-TOF ne donne pas une bonne identification. L'identification sera effectuée sur Vitek.

Gélose de comptage pour échantillons d'urine (critères de Kass): bactériurie non significative. Contaminant ?

Malditof a donné un score de 89.1. Le deuxième essai a donné une ID *Lactobacillus delbrueckii* (91.9).

La coloration de Gram montrait cependant des coccobacilles. Un nouvel ensemencement à partir du flacon original a donné deux germes sur la gélose au sang avec comme ID *Helcococcus kunzii* (27.0) et *Staf intermedius* (99.9). Echantillon impure? Eventuellement identifier la souche avec le Vitek ou envoyer pour Brüker.

envoi centre de référence: BGP type corynébactérie spp

Résistance au métronidazole

#### Laboratoires qui répondraient en routine *A. schaalii*

Ces 2 laboratoires ont pris les résultats des tests complémentaires en compte pour leur réponse finale.

Laboratoires qui conseillent d'effectuer des tests complémentaires: N = 2

#### Quels tests:

Vitek MS donne « No Identification ». Test complémentaires: carte Vitek GP, tests manuels d'ID. Gram(+) bacilles dans l'urine: suspicion d'*Actinobaculum schaalii* (pas repris dans la base de données) => rapportage et envoi éventuelle en fonction du contexte clinique (pyurie ? plaintes ? ...)

Sur Vitek 2 compact *Actinobaculum schaalii*. Ce germe n'est pas dans la base de données MS et a donc été identifié par Vitek 2 -compact



**M/14237 *Shigella sonnei***

Nombre de participants : 75 (un laboratoire n'utilise pas de Maldi-tof pour les selles)

**Bruker** N = 54

Logiciel: IVD: 37  
RUO: 10  
Moisissures: 1  
IVD + RUO: 1  
IVD + bioterrorisme: 1  
RUO + bioterrorisme: 2  
RUO + moisissures: 1  
RUO + bioterrorisme + moisissures + mycobactéries: 1

Extraction: Sans: 49  
Acide formique: 5

**bioMérieux** N = 21

Logiciel: IVD: 20  
Myla: 1  
Extraction: Sans: 19  
Acide formique: 1  
Vitek MS-CHCA: 1

**Résultat final** (répondu en routine)

**Bruker**

Pas répondu en routine: N = 43

Répondu en routine: N = 11

Réponses fournies

<b>Réponse</b>	<b>N labos</b>
<i>Shigella sonnei</i>	6
<i>Shigella dysenteriae</i>	1
<i>Shigella species</i>	2
<i>Escherichia coli</i>	2
<b>Total</b>	<b>11</b>

## bioMerieux

Pas répondu en routine: N = 12

Répondu en routine: N = 9

### Réponses fournies

Réponse	N labos
<i>Shigella sonnei</i>	7
<i>Shigella species</i>	1
<i>Escherichia coli</i>	1
<b>Total</b>	<b>9</b>

### Résultats techniques obtenus avec l'appareil de Bruker

#### Laboratoires qui ne fourniraient pas de résultat en routine

1<sup>e</sup> résultat: *E. coli* N= 43

Score: médiane: 2.380; min: 2.190; max: 2.487

2<sup>e</sup> résultat: *E. coli* N= 43

Score: médiane: 2.340; min: 2.050; max: 2.466

3<sup>e</sup> résultat: *E. coli* N= 43

Score: médiane: 2.300; min: 2.040; max: 2.464

Consistence with score: A: 42

B: 1

Laboratoires qui conseillent d'effectuer des tests complémentaires: N = 40

#### Quels tests:

XLD, McCONKEY-SORBITOL,EMB, API20E, ID32E

TSI, urée, indole, API 20E, agglutination avec antisérums Shigella

lysine, si négatif: API20E

TSI MIU Si les analyses ci-dessus font suspecter la présence d'une Shigella: agglutination avec Wellcolex Color Shigella

galerie API rapid 32E : Shigella sonnei. Nous rendrons donc Shigella sonnei sur le protocole.

ID Vitek pour exclure une Shigella

Lysine, si lysine négatif: motilité si immobile : IGN Vitek (recherche Shigella) Si Shigella : agglutination

ID Vitek: Shigella sonnei

Carte ID Vitek

Oui pour exclure/confirmer Shigella LDC +/- Vitek, agglutination et envoi au CNR

Pas de distinction entre *E. coli* et Shigella sur le Maldi Isolement sur milieu Mac Conkey; en cas de croissance de colonies Lactose négatives, identification par galeries sur le Vitek 2

Milieux de culture spécifique pour Shigella sp.

TSI, uréase, LDC, Wellcolex colour Shigella, PCR

Motilité Lysine Lactose

Une TSI est toujours ensemencée pour ne pas rater des shigella. Si présence de croissance suspecte sur TSI, on effectue toujours une agglutination avec différents antisérums. Après la souche est envoyée au CNR pour confirmation.

identification par Vitek = Shigella sonnei

identification par Vitek Agglutination avec antisérum polyvalent Shigella

Agglutination avec antisérums Shigella: POS avec D VITEK: Shigella sonnei

Vitek 2 C IDGN : Shigella sonnei 99% probabilité

identification biochimique (ONPG-TDA/INDOLE-UREASE-LDC) et une galerie API E

TSI, API20E pour exclure une Shigella

TSI et éventuellement agglutination Shigella

Si échantillon de selles: Urée, Indole, TSI, Lysine Décarboxylase, motilité, agglutination Shigella. Si échantillon d'urines et hémocultures: milieu chromogène.

Identification biochimique (triple sugar iron; lysine iron agar; motilité-indole-ornithine agar)

Agglutination pour le groupe des Shigella et alkalescens/dispar (Difco BD)

API 20 E sérotypage

TSI API 20E antisérums Shigella

Agglutination par des anti-séras confirmant la présence de Shigella. En routine, la souche serait donc envoyée au CNR correspondant pour confirmer l'identification.

Carte phénotypique Vitek-2.

Pour exclure Shigella : Agglutination Shigella

éventuellement si suspicion EHEC -> typage souche

Antisérums

identification vitek ( différenciation shigella ) si shigella: envoi au centre de référence

Sérotypage shigella

Connaissant l'impossibilité actuelle de différencier E. coli et Shigella par MALDI-TOF MS, lorsque nous identifions un E. coli dans une selle, nous procédons à la réalisation d'une galerie de type API-20E. Si la galerie donne Shigella sp., nous confirmons ce résultat par un test d'agglutination et nous envoyons la souche au CNR. Si la galerie donne E. coli, avec sorbitol négatif, nous vérifions le contexte clinique et si la selle est hémorragique. Si nécessaire, nous envoyons la souche au CNR pour recherche d'E. coli producteur de vero/shiga toxines.

- Identification Vitek - Sérotypage - PCR

en fonction de l'état clinique du patient et de la consistance de l'échantillon : galerie classique pour exclure une shigella

ID Vitek --> Shigella sonnei Agglutination antisérum shigella : positif pour Shigella sonnei polyvalent

Réponse : Shigella sonnei Envoi au labo de réf.

Fermentation de lactose. si lactose négatif: LDC + « série courte » (glu-lac-MIU)

Aspect des colonies + galerie API + agglutination avec antisérum spécifiques

Indole : négatif Agglutination Shigella : positif Identification Vitek 2 : Shigella sonnei

Laboratoires qui répondraient en routine *S. sonnei*

1<sup>e</sup> résultat: *E. coli* N= 6

Score: médiane: 2.360; min: 2.196; max: 2.473

2<sup>e</sup> résultat: *E. coli* N= 6

Score: médiane: 2.316; min: 2.270; max: 2.457

3<sup>e</sup> résultat: *E. coli* N= 6

Score: médiane: 2.280; min: 2.044; max: 2.394

Consistence with score: A: 6

Laboratoires qui conseillent d'effectuer des tests complémentaires: N = 6

Quels tests:

Malditof donne pour une *Escherichia coli* toujours « closely related to *Shigella* » pour cette raison on effectue toujours un test d'agglutination avec les antisérums anti-*Shigella*

Agglutination - Envoyer la souche au centre de référence pour confirmation

Carte Vitek GN d'identification : - Si *E. coli* : non rapportable sur le protocole - Si *Shigella* sp : rapportable sur le protocole

UNMIC ID/AST sur Phoenix, test d'agglutination *shigella*,

Lysine, Kligler et agglutination Wellcolex Colour *Shigella*

Galerie API E20 : *Shigella sonnei* Antisérums *Shigella sonnei* POLYVALENT BIO RAD

Le laboratoire qui répondrait en routine *Shigella dysenteriae*

1<sup>e</sup> résultat: *E. coli* score: 2.349

2<sup>e</sup> résultat: *E. coli* score: 1.298

3<sup>e</sup> résultat: *E. coli* score: 1.294

Consistence with score: A

Le laboratoire conseille comme tests complémentaires: fermentation de lactose (négatif), identification par Vitek2 (*Shigella dysenteriae*: 99% probabilité), envoi au CNR.

Laboratoires qui répondraient en routine *Shigella* species

1<sup>e</sup> résultat: *E. coli* N = 2

Scores: 2.34, 2.19

2<sup>e</sup> résultat: *E. coli* N = 2

Scores: 2.1, 2.12

3<sup>e</sup> résultat: *E. coli* N = 2

Scores: 2.1, 2.21

Consistence with score: A: 2

Laboratoires qui conseillent d'effectuer des tests complémentaires: N = 2

Quels tests:

PCR entéropathogènes (Salmonella, Shigella, Yersinia, Campylobacter)

TSI Agglutination envoi au laboratoire de référence

Laboratoires qui répondraient en routine *E. coli*

1<sup>e</sup> résultat: *E. coli* N= 2

Score: 2.371, 2.233

2<sup>e</sup> résultat: *E. coli* N= 2

Score: 2.358, 2.223

3<sup>e</sup> résultat: *E. coli* N= 2

Score: 2.315, 2.212

Consistence with score: A: 2

Laboratoires qui conseillent d'effectuer des tests complémentaires: N = 2

Quels tests:

Aspect TSI et fermentation de lactose

IDGN sur Vitek2 puisqu'il s'agit d'un échantillon de selles (Shigella sp).

### **Résultats techniques obtenus avec l'appareil de bioMérieux**

Laboratoires qui ne fourniraient pas de résultat en routine

Résultat: *E. coli* N= 12

Laboratoires qui conseillent d'effectuer des tests complémentaires: N = 12

Quels tests:

Identification Maldi = Escherichia coli (possibilité de shigella!!!). Tests complémentaires : Identification sur vitek 2 de toutes les souches E. coli lactose négative. Identification Vitek 2: shigella sonnei à 99%. Identification finale sur protocole = SHIGELLA SONNEI uréase, TSI, Api 20E, coloration de Gram.

Identification biochimique. Shigella spp. donne comme ID E. coli sur VITEK MS. La distinction est possible par l'agglutination et l'identification biochimique.

recherche d'une toxine ou de ses gènes (si positif, identification sera répondue sur le protocole)

LDC: si négative, carte vitek étant donné que le Maldi-tof ne sait pas faire la distinction avec Shigella.

Vitek ID et agglutination. VitekMS ne sait pas faire la distinction entre E. coli et Shigella.

Galerie ID GN Vitek 2

carte identification GN sur Vitek

Le Vitek MS ne sait pas faire la distinction entre E. coli et Shigella sp.; sur les échantillons de selles on détermine l'identification à l'aide des tests biochimiques, d'agglutination et de la carte ID sur Vitek 2 - > Shigella sonnei

lysine décarboxylase pour différentier *E. coli* et *Shigella species*  
Exclure *Shigella* --> test Louis: Nég Exclure EHEC -> *E. coli* O157 agglutination: Nég  
Galerie GN sur vitek 2: réponse protocole: *Shigella sonnei*

#### Laboratoires qui répondraient en routine *S. sonnei*

Résultat:        *E. coli* N= 6  
                      *S. sonnei* N = 1

Laboratoires qui conseillent d'effectuer des tests complémentaires: N = 6 il s'agit des 6 laboratoires qui ont obtenu le résultat *E. coli*; leurs réponses à la question de savoir quels tests ils effectueraient, montre qu'ils ont effectué ces tests et pris ces résultats en compte pour répondre, *S. sonnei* en routine.

#### Quels tests

Carte Vitek GN et/ou TSI + sérotypage

On analyse une TSI et un test LDC (Lysine décarboxylase). En cas de LDC négative et aspect *Shigella* sur TSI on effectue une galerie API 20 E.

TSI, Carte Vitek 2 GN, agglutination latex *Shigella* (Wellcolex Colour *Shigella*)

Test Wellcolex colour *Shigella* : positif pour *Shigella sonnei*

MS vitek ne sait pas faire la distinction entre *E. coli* et *Shigella*. Identification sur Vitek 2 -compact a donné l'identification *Shigella sonnei*

L'identification est donnée par une galerie API 20E en fonction de l'aspect des colonies sur milieu Hektoen, le Vitek MS ne donnant pas d'identification correcte pour *Shigella*

#### Le laboratoire qui répondrait en routine *Shigella species*

Résultat:        *Shigella species*

En routine le laboratoire déterminerait l'indole (négatif); le Vitek GN (*Shigella sonnei*); l'agglutination *Shigella* I (*Shigella flexneri*/*Shigella sonnei*) (positif) en enverrait l'échantillon au centre de référence pour confirmation.

#### Le laboratoire qui répondrait en routine *E. coli*

Résultat:        *E. coli*

Le laboratoire n'effectuerait pas de tests complémentaires en routine.

**M/14238 *Cryptococcus neoformans***

Nombre de participants : 76

***Bruker* N = 55**

Logiciel: IVD: 38  
RUO: 11  
Moisissures: 1  
IVD + RUO: 1  
IVD + bioterrorisme: 2  
RUO + moisissures: 1  
RUO + bioterrorisme + moisissures + mycobactéries: 1

Extraction: Sans: 21  
Acide formique: 33  
Complet: 1

**bioMérieux N = 21**

Logiciel: IVD: 19  
Moisissures: 1  
Myla: 1  
Extraction: Sans: 4  
Acide formique: 16  
Vitek MS-CHCA: 1

**Résultat final** (répondu en routine)

***Bruker***

Pas répondu en routine: N = 4

Répondu en routine: N = 51

Réponses fournies

<b><i>Réponse</i></b>	<b><i>N labos</i></b>
<i>Cryptococcus neoformans</i>	48
<i>Cryptococcus neoformans neoformans</i>	1
<i>Cryptococcus species</i>	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	1
<b><i>Total</i></b>	<b>51</b>

## bioMerieux

Pas répondu en routine: N = 1

Répondu en routine: N = 20

### Réponses fournies

Réponse	N labos
<i>Cryptococcus neoformans</i>	18
<i>Staphylococcus aureus</i>	1
<i>Streptococcus anginosus</i>	1
<b>Total</b>	<b>20</b>

### Résultats techniques obtenus avec l'appareil de Bruker

#### Laboratoires qui ne fourniraient pas de résultat en routine

1<sup>e</sup> résultat: *C. neoformans* N = 3

Scores: 1.980, 2.018, 2.067

*Gluconacetobacter* species N = 1

Score: médiane: 1.218

2<sup>e</sup> résultat: *C. neoformans* N = 3

Score: 1.960, 1.971, 2.013

*Gluconacetobacter* species N = 1

Score: 1.206

3<sup>e</sup> résultat: *C. neoformans* N = 3

Scores: 1.850, 1.962, 2.012

*Clostridium haemolyticum* N = 1

Score: 1.174

Consistence with score: A: 2

B: 1

C: 1 (il s'agit du laboratoire avec les résultats  
*Gluconacetobacter* species et *Clostridium*  
*haemolyticum*)



Laboratoires qui conseillent d'effectuer des tests complémentaires: N = 4

Quels tests:

Identification Vitek, encre de Chine, gram  
encre de Chine  
Coloration de Gram - Agglutination - PCR  
Test moléculaire (séquençage ITS)

Laboratoires qui répondraient en routine *C. neoformans*

1<sup>e</sup> résultat: *C. neoformans* N = 49

Score: médiane: 2.023; min: 1.800; max: 2.209

2<sup>e</sup> résultat: *C. neoformans* N = 49

Score: médiane: 1.960; min: 1.690; max: 2.201

3<sup>e</sup> résultat: *C. neoformans* N = 49

Score: médiane: 1.192; min: 1.614; max: 2.167

Remarque: le laboratoire qui a répondu *C. neoformans neoformans*, a obtenu 3 fois la sous-espèce neoformans.

Consistence with score: A: 34

B: 15

Laboratoires qui conseillent d'effectuer des tests complémentaires: N = 17

Quels tests:

API20 C AUX

Confirmation avec encre de Chine (capsule).

Examen direct

Examen microscopique

uréase rapide positif

Coloration de Gram pour confirmation. Remarque: MALDI donne 3 fois crypt neoformans subsp var neoformans.

microscopie avec encre de Chine

Ink stain

Coloration de Gram / encre de Chine. Séquençage 16S. Envoi au laboratoire de référence

API 10C Détermination de l'antigène dans le sérum et éventuellement dans le liquide céphalo-rachidien (si disponible).

Galerie YST ID Vitek 2

Encre de Chine

Examen à l'encre de Chine

Examen direct à l'encre de Chine.

Gram Encre de Chine Urée

coloration gram

Coloration de Gram

Le laboratoire qui répondrait en routine *Cryptococcus species*

1<sup>e</sup> résultat: *C. neoformans* score: 1.99

2<sup>e</sup> résultat: *C. neoformans* score: 1.88

3<sup>e</sup> résultat: *C. neoformans* score: 1.71

Consistence with score: C

Le laboratoire conseille comme test complémentaire: Séquençage de la région ITS (étant donné que l'identification par Biotyper Bruker Maldi-tof n'est pas validée (pas encore 5 souches confirmées)).

### **Résultats techniques obtenus avec l'appareil de bioMérieux**

Le laboratoire qui ne fournirait pas de résultat en routine, n'a pas obtenu de résultat avec le Maldi-tof

Laboratoires qui répondraient en routine *C. neoformans*

Résultat: *C. neoformans* N = 18

Laboratoires qui conseillent d'effectuer des tests complémentaires: N = 7

Quels tests:

Vérification par examen direct

Vitek YST; coloration à l'encre

Coloration de Gram

Coloration de Gram préalable à l'identification sur Vitek MS

confirmation avec le Vitek la valeur de confiance n'étant pas assez élevée

Coloration de Gram, culture sur CandiSelect, vérification sur Brüker.

Encre de chine

**M/14239 Staphylococcus aureus**

Nombre de participants : 75 (un laboratoire n'analyse pas d'hémocultures en routine)

**Bruker** N = 55

Logiciel: IVD: 39  
RUO: 10  
Moisissures: 1  
IVD + RUO: 1  
RUO + bioterrorisme: 2  
RUO + bioterrorisme + moisissures: 1  
RUO + bioterrorisme + moisissures + mycobactéries: 1

Extraction: Sans: 49  
Acide formique: 6

**bioMérieux** N = 20

Logiciel: IVD: 19  
Myla: 1  
Extraction: Sans: 18  
Acide formique: 1  
Vitek MS-CHCA: 1

**Résultat final** (répondu en routine)

**Bruker**

Pas répondu en routine: N = 1

Répondu en routine: N = 54

Réponses fournies

<b>Réponse</b>	<b>N labos</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	51
<i>Staphylococcus aureus aureus</i>	2
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1
<b>Total</b>	<b>54</b>

## bioMerieux

Répondu en routine: N = 20

### Réponses fournies

Réponse	N labos
<i>Staphylococcus aureus</i>	20
<b>Total</b>	<b>20</b>

### Résultats techniques obtenus avec l'appareil de Bruker

#### Le laboratoires qui ne fournirait pas de résultat en routine

1<sup>e</sup> résultat: *S. aureus* score: 2.22

2<sup>e</sup> résultat: *S. aureus* score: 2.16

3<sup>e</sup> résultat: *S. aureus* score: 2.08

Consistence with score: A

Le laboratoire n'effectuerait pas de tests complémentaires en routine.

#### Laboratoires qui répondraient en routine *S. aureus* (aureus)

1<sup>e</sup> résultat: *S. aureus* N = 37

Score: médiane: 2.317; min: 1.840; max: 2.480

*S. aureus aureus* N = 16

Score: médiane: 2.330; min: 2.194; max: 2.450

2<sup>e</sup> résultat: *S. aureus* N = 41

Score: médiane: 2.262; min: 1.63; max: 2.430

*S. aureus aureus* N = 12

Score: médiane: 2.285; min: 2.069; max: 2.370

3<sup>e</sup> résultat: *S. aureus* N = 46

Score: médiane: 2.226; min: 1.570; max: 2.400

*S. aureus aureus* N = 7

Score: médiane: 2.143; min: 2.056; max: 2.240

Consistence with score: A: 51

B: 2

Laboratoires qui conseillent d'effectuer des tests complémentaires: N = 3

Quels tests:

Coagulase: POS Gélose chromogène

pastorex (agglutination sur lame) coagulase si hémoculture ou MRSA.

Pas de tests complémentaires sauf si profil de résistance particulier/incohérent.

### **Résultats techniques obtenus avec l'appareil de bioMérieux**

*Laboratoires qui répondraient en routine S. aureus*

Résultat: *S. aureus* N = 20

Laboratoires qui conseillent d'effectuer des tests complémentaires: N = 5

Quels tests:

Coloration de Gram, tube test, gélose MSA.

Antibiogramme

coagulase (Pastorex): positif

Agglutination *S. aureus*

Agglutination latex- (Staphaurex plus)

---

**FIN**

---