



WETENSCHAPPELIJK INSTITUUT
VOLKSGEZONDHEID
INSTITUT SCIENTIFIQUE
DE SANTÉ PUBLIQUE



**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 DEFINITIF MALDI-TOF 2017

ISP/Microbiologie/112

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

www.wiv-isp.be



COMITE DES EXPERTS

ISP					
Carlier Danielle	Secrétariat	TEL:	02/642.55.21	FAX:	02/642.56.45
Dr. VERNELEN Kris	Coordinateur d'enquête	TEL:	02/642.55.29		
		e-mail:	kris.vernelen@wiv-isp.be		
Dr. CHINA Bernard	Coordinateur d'enquête remplaçant	TEL:	02/642.53.85		
		e-mail:	bernard.china@wiv-isp.be		
Experts	Institution				
Dr. BERTH Mario	AML ANTWERPEN	TEL:	03/30.30.809	FAX:	03/30.30.882
		e-mail:	mario.berth@aml-lab.be		
Pharm. BOEL An	OLVZ AALST	TEL:	053/72.47.85	FAX:	053/72.45.88
		e-mail:	an.boel@olvz-aalst.be		
Dr. BOELENIS Jerina	UZ GENT	TEL:	093/32.19.69	FAX:	093/32.36.40
		e-mail:	jerina.boelens@uzgent.be		
Dr. BOERAS Anca	CLINIQUE ST JOSEPH LIEGE	TEL:	042/24.83.58	FAX:	042/24.84.73
		e-mail:	anca.boeras@chc.be		
Dr. CLAEYS Geert	UZ GENT	TEL:	09/332.36.45	FAX:	09/332.49.85
		e-mail:	geert.claeys@ugent.be		
Dr. DE BEENHOUWER Hans	OLVZ AALST	TEL:	053/72.42.72	FAX:	053/72.45.88
		e-mail:	hans.de.beenhouwer@olvz-aalst.be		
Dr. DE GHELDRE Yves	CHIREC	TEL:	02/340.41.34	FAX:	02/340.41.79
		e-mail:	yves.degheldre@chirec.be		
Dr. DELFORGE Marie-Luce	ULB ERASME	TEL:	02/555.34.53	FAX:	02/555.64.59
		e-mail:	marie-luce.delforge@erasme.ulb.ac.be		
Dr. MAGERMAN Koen	JESSA ZIEKENHUIS HASSELT	TEL:	011/30.97.40	FAX:	011/30.97.50
		e-mail:	koen.magerman@jessazh.be		
Dr. PADALKO Elizaveta	UZ GENT	TEL:	09/332.21.08	FAX:	09/332.49.85
		e-mail:	elizaveta.padalko@uzgent.be		
Dr. REYNDERS Marijke	AZ SINT JAN BRUGGE	TEL:	050/45.26.03	FAX:	050/45.26.19
		e-mail:	marijke.reynders@azsintjan.be		
Dr. SAEGEMAN Veroniek	UZ LEUVEN	TEL:	016/34.24.23	FAX:	016/34.70.10
		e-mail:	veroniek.saegeman@uzleuven.be		
Dr. VAN ACKER Jos	AZ ST LUCAS GENT	TEL:	09/224.64.45	FAX:	09/224.64.46
		e-mail:	jos.vanacker@azstlucas.be		
Dr. VERROKEN Alexia	CLINIQUES SAINT-LUC BRUXELLES	TEL:	02/764.67.32	FAX:	02/764.69.33
		e-mail:	alexia.verroken@uclouvain.be		
Pharm. VIJGEN Sara	JESSA ZIEKENHUIS HASSELT	TEL:	011/33.82.22	FAX:	011/33.82.08
		e-mail:	sara.vijgen@jessazh.be		

Une version provisoire de ce rapport a été transmise aux experts le : 24/11/2017.

Ce rapport a été discuté lors de la réunion du comité d'experts le : 01/12/2017.

Autorisation de diffusion de rapport: Par Kris Vernelen, le 12/12/2017.

Signature du coordinateur d'enquête

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'Kris Vernelen', is shown on a light-colored background.

Tous les rapports sont également consultables sur notre site web:

https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/rapports/ fr/rapports annee.htm

Tables des matières

I. Les échantillons	5
II. Les résultats.....	6
M/7438: <i>Rhodococcus equi</i>	6
Résultat final.....	7
Résultats techniques obtenus avec l'appareil de Bruker.....	8
Résultats techniques obtenus avec l'appareil de bioMérieux.....	10
Commentaire M/7438 <i>Rhodococcus equi</i>	11
M/14598: <i>Salmonella</i> Chester	14
Résultat final.....	15
Résultats techniques obtenus avec l'appareil de Bruker.....	16
Résultats techniques obtenus avec l'appareil de bioMérieux.....	20
Commentaire M/14598 <i>Salmonella</i> Chester.....	20
M/14854: <i>Listeria monocytogenes</i>	23
Résultat final.....	23
Résultats techniques obtenus avec l'appareil de Bruker.....	24
Résultats techniques obtenus avec l'appareil de bioMérieux.....	27
Commentaire M/14854 <i>Listeria monocytogenes</i>	28
M/15149: <i>Shewanella</i> species.....	31
Résultat final.....	31
Résultats techniques obtenus avec l'appareil de Bruker.....	32
Résultats techniques obtenus avec l'appareil de bioMérieux.....	35
Commentaire M/15149 <i>Shewanella algae</i>	35
M/15165: <i>Streptococcus dysgalactiae</i>	38
Résultat final.....	38
Résultats techniques obtenus avec l'appareil de Bruker.....	39
Résultats techniques obtenus avec l'appareil de bioMérieux.....	41
Commentaire M/15165 <i>Streptococcus dysgalactiae</i>	41

I. Les échantillons

Cinq échantillons lyophilisés ont été envoyés. Les échantillons devaient être reconstitués avec 0.5 ml d'eau distillée 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/7438: hémoculture

M/14598: selles

M/14854: hémocultuur

M/15149: selles

M/15165: 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 spécifiques 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 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/7438: *Rhodococcus equi*

M/14598: *Salmonella* Chester

M/14854: *Listeria monocytogenes*

M/15149: *Shewanella algae*

M/15165: *Streptococcus dysgalactiae*

II. Les résultats

81 laboratoires ont participé à cette enquête: 80 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/7438: Rhodococcus equi

Nombre de participants : 77 (trois laboratoires n'utilisent pas de Maldi-TOF pour ce genre d'échantillons)

Bruker: N = 59

Logiciel: IVD: 38
RUO: 9
IVD + RUO: 2
IVD + RUO + bioterrorisme + moisissures + mycobactéries: 1
IVD + bioterrorisme + moisissures + mycobactéries + propre base: 1
RUO + bioterrorisme: 6
RUO + bioterrorisme+ moisissures + mycobactéries: 1
RUO + moisissures + mycobactéries + propre base: 1

Extraction: Sans: 26
Acide formique: 22
Complet: 6
Sans + acide formique: 4
Sans + complet: 1

bioMérieux N = 18

Software: IVD: 17
Myla: 1

Extraction: Sans: 13
Acide formique: 3
Complet: 1
Vitek MS-CHCA: 1

Résultat final (répondu en routine)

Bruker

Pas répondu en routine: N = 1

Répondu en routine: N = 58

Réponses fournies:

Réponses	N labos
Rhodococcus equi	54
Rhodococcus species	2
Total	56

bioMérieux

Pas répondu en routine: N = 5

Répondu en routine: N = 13

Réponses fournies:

Réponse	N labos
<i>Rhodococcus equi</i>	10
<i>Rhodococcus hoagii</i>	1
<i>Gemella morbillorum</i>	1
<i>Haemophilus haemolyticus</i>	1
Total	13

Résultats techniques obtenus avec l'appareil de Bruker

Nous n'avons pas constaté de différences entre les versions utilisées des logiciels IVD et RUO: les différentes réponses ont été obtenues par des laboratoires avec différentes versions des logiciels.

Laboratoires qui ne fourniraient pas de résultat en routine (N = 3)

1^e résultat: *R. equi* N = 3

Score: médiane: 2.095; min: 2.049; max: 2.209

2^e résultat: *R. equi* N = 3

Score: médiane: 2.037; min: 2.011; max: 2.057

3^e résultat: *R. equi* N = 3

Score: médiane: 2.021; min: 2.020; max: 1.968

Consistence with score: A: 3

Un laboratoire a conseillé d'effectuer des tests complémentaires: coloration de Gram, contrôle du pigment, catalase, Api coryne et CAMP test avec *S. aureus*.

Laboratoires qui répondraient en routine *R. equi* (N = 54)

1^e résultat: *R. equi* N = 54

Score: médiane: 2.150; min: 1.765; max: 2.420

2^e résultat: *R. equi* N = 54

Score: médiane: 2.088; min: 1.728; max: 2.330

3^e résultat: *R. equi* N = 54

Score: médiane: 1.990; min: 1.181; max: 2.260

Consistence with score: A: 45

B: 8

C: 1

Laboratoires qui conseillent d'effectuer des tests complémentaires: N = 14

Quels tests

<i>Test</i>	<i>N labos</i>
Coloration de Gram	2
Coloration de Gram + catalase	4
Coloration de Gram + catalase + oxidase + nitrate + séquençage 16S	1
Coloration de Gram + catalase + oxidase + CAMP-test + H2S + absence d'hémolyse + envoi au laboratoire de référence	1
Coloration de Gram + identification génétique	1
Gram culture jeune versus culture âgée + catalase + Ziehl + sensibilité à la vancomycine + urée	1
Coloration de Gram, ainsi qu'une mise en culture sur milieu sélectif et une détermination de la sensibilité aux antibiotiques. En cas d'hémoculture significative, nous pouvons confirmer définitivement l'identification par PCR 16s et séquençage de la souche.	1
API coryne	1
Séquençage 16S	2
Total	14

Le laboratoire qui répondrait en routine *Rhodococcus* species (N = 2)

1^e résultat: *R. equi* N = 2

Scores: 1.958, 1.930

2^e résultat: *R. equi* N = 2

Scores: 1.830, 1.840

3^e résultat: *R. equi* N = 2

Scores: 1.692, 1.840

Consistence with score: B: 2

Aucun des 2 laboratoires n'effectuerait de tests complémentaires en routine

Résultats techniques obtenus avec l'appareil de bioMérieux

Laboratoires qui ne fourniraient pas de résultat en routine (N =5)

Résultat: *R. equi* N = 2
 S. anginosus N = 1
 N. asteroides N = 1
 Nocardia species N = 1

Quels tests

Réponse sur le protocole: coques à Gram positif, probablement *Rhodococcus* spp., l'identification est contrôlée. La souche est envoyée à un laboratoire externe. (Malditof Bruker, Phoenix et séquençage 16S si nécessaire) Carte Vitek: pas d'identification Gram: coques à Gram positif Stringtest: Négatif En routine la souche est envoyée pour séquençage 16S.
(ID Malditof bioMérieux = *R. equi*)

Score de fiabilité 28% => utiliser une autre méthode pour l'identification (Carte Vitek ID)
(ID Malditof bioMérieux = *S. anginosus*)

Coque-bacille Gram variable Carte Gn Vitek 2: *Brucella melitensis* Sur Malditoff identification non fiable car 4 Identification différentes (*Nocardia*, *Rhodococcus*, *Eggerthelia*, *Prevotella*). Envoi pour identification au Laboratoire référent

Résultat Vitek MS: *Nocardia nova* 50%/ *Nocardia africana* 50%; mais vu que cette identification est discordante avec la coloration de Gram, nous enverrions cette souche en routine à l'UZ Bruxelles pour identification
(ID Malditof bioMérieux = *Nocardia species*)

Laboratoires qui répondraient en routine *R. equi* (N = 10)

Résultat: *R. equi* N = 10

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

Quels tests

<i>Test</i>	<i>N labos</i>
Coloration de Gram	2
Séquençage 16S	1
Total	3

Le laboratoire qui répondrait en routine *Rhodococcus hoagii* (N = 1)

Résultat: *R. hoagii*

Le laboratoire n'effectuerait pas de tests complémentaires

Le laboratoire qui répondrait en routine *Gemella morbillorum* (N = 1)

Résultat: *N. gonorrhoeae*

Gram et oxydase car le MS a donné N. gono à 58% et Gemella morbillorum à 42%.

Le laboratoire qui répondrait en routine *Haemophilus haemolyticus* (N = 1)

Résultat: *Haemophilus haemolyticus*

Le laboratoire n'effectuerait pas de tests complémentaires

Commentaire M/7438 *Rhodococcus equi*

Rhodococcus equi (Goodfellow and Alderson 1977), ***Corynebacterium equi*** (Magnusson 1923), ***Corynebacterium hoagii*** (Morse 1912 Ebersson 1918) et ***Nocardia restricta*** (Turfitt 1944, McClung 1974) désignent la même espèce bactérienne. Suite à une analyse taxonomique polyphasique en 2014, ***Rhodococcus equi*** constitue avec ***Corynebacterium hoagii*** une seule espèce : ***Rhodococcus hoagii*** (1). La proposition de réattribution de ***Rhodococcus equi*** au genre ***Prescotella*** (2,3), n'a pas été retenue (4).

Identifié comme pathogène équin en 1923 (5), connu en médecine vétérinaire comme agent de pneumonie chez le poulain, il a été ultérieurement isolé chez d'autres animaux : bovins, porcs, moutons, chèvres, ours, cervidés, phoques, chiens et chats. Le crottin et le fumier constituent le réservoir principal de ***Rhodococcus equi***; le mode de contamination par inhalation est le plus fréquent. (6)

La première infection humaine était rapportée en 1967(7). On observe une flambée dans les années 1980 coïncidant avec le début de la pandémie HIV.(8)

Rhodococcus equi est un pathogène intracellulaire facultatif, qui infecte les macrophages et peut survivre dans les lysosomes. Plus de 85% des cas surviennent chez les patients avec un déficit d'immunité cellulaire, particulièrement chez les patients infectés par le HIV.(8)

80% des infections humaines sont pulmonaires. Dans 50% de ces cas, seules les hémocultures sont positives. L'isolement d'un ***Rhodococcus equi*** dans les hémocultures doit être rapporté ! Diverses localisations extra pulmonaires sont décrites : abcès cérébraux, infections des plaies, arthrites, endophtalmies,

péritonites, adénites mésentériques, ostéomyélites, otites moyennes avec mastoïdites.

Appartenant aux Actinomycètes « aérobies », qui comprennent ,entr'autres, les **Nocardia**, **Gordonia**, **Actinomadura**, **Streptomyces** , **Tsukamurella**, **Rhodococcus equi** est une bactérie Gram positif, de morphologie variable en fonction du temps d'incubation et de la nature du milieu utilisé : bacillaire sur les colonies jeunes ou cultivées en milieu liquide , coccoïde en vieillissant. Ce caractère est commun à toutes les espèces de **Rhodococcus**. Le caractère partiellement acido-alcool résistant par la technique de Kinjoun (coloration de Ziehl-Neelsen à froid) dû au contenu en acide mycolique et en acide tuberculostéarique de la paroi cellulaire, peut prêter à confusion avec les **Nocardia**, **Gordonia**, **Dietzia**, **Seginliparus**, **Tsukamurella** , **Williamsia**.

Les colonies sont muqueuses, saumonées (pigment d'apparition tardive, après 2-3 jours).

L'aspect macroscopique et microscopique ne permet pas de le distinguer des corynébactéries (la forme bacillaire), ni des microcoques (la forme coccoïde), avec le risque de le considérer comme contaminant.

Rhodococcus equi possède les caractères suivants : aérobie strict, catalase positive, immobile, non sporulé, mode de division longitudinale (palissades), pas de mycélium aérien.

Le CAMP factor est positif avec **Staphylococcus aureus** et **Listeria ivanovii**.

La méthode de référence d'identification moléculaire de **Rhodococcus equi** (y compris dans les prélèvements cliniques) est l'amplification d'un fragment du gène choE qui encode une cholestérol-oxidase. (9)

En rapport avec l'identification par MALDI-TOF MS, on retrouve peu de données dans la littérature. **Alegría Puig et al** ont conclu que le Biotyper (Bruker) a identifié 131 (85.1%) des 154 isolats de **Rhodococcus equi** au niveau de l'espèce .Le pourcentage d'identification correcte atteint 98,7% quand le cutoff passe du score ≥ 2.000 au score ≥ 1.750 . Vitek MS (bioMérieux) identifie correctement l'espèce pour 130 isolats (84,4%), après extraction à l'éthanol, mais seulement pour 35 isolats (22,7%), quand l'identification est pratiquée directement à partir des colonies. (10)

D'après notre enquête, 100% des 59 laboratoires qui utilisent le Maldi- Biotyper (Bruker) ont identifié correctement au niveau de l'espèce . Seulement 13 des 18 laboratoires (72,22%) utilisant le Vitek-MS ont identifié correctement l'espèce. L'extraction ne semble pas influencer les résultats pour le Maldi-Biotyper (Bruker) ; par contre les utilisateurs de Vitek-MS amélioreront leur résultat en effectuant une extraction.

A mentionner aussi qu'il n'y a pas eu de mise à jour de la nomenclature dans les deux bases de données. **Rhodococcus hoagii** n'y est pas repris.

A. Boeras, Clinique St-Joseph, Liège

- Kämpfer,P.,Dott,W.,Martin,K.,Glaeser,S.P.2014** *Rhodococcus defluvii* sp. nov., isolated from wastewater of a bioreactor and formal proposal to reclassify [*Corynebacterium hoagii*] and *Rhodococcus equi* as *Rhodococcus hoagii* comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 2014 Mar;**64 (pt3)**:755-61.
- Jones,A.L.,Sutcliffe,I.C.,Goodfellow,M.2013** *Prescottia equi* gen. nov.;comb. nov : a newhome for an old pathogen .*Antonie van Leeuwenhoek* 2013 Mar;**103(3)**:655-71.
- Jones,A.L.,Sutcliffe, I.C.,Goodfellow,M.2013** Proposal to replace the illegitimate genus name *Prescottia* et al. 2013 with the genus name *Prescotella* gen. nov. and to replace the illegitimate combination *Prescottia equi* Jones et al. 2013 with *Prescotella equi* comb. nov *Antonie van Leeuwenhoek* 2013 Jun;**103(6)**:1405-7.
- Conville,P.S., Wittersby,F.G.** *Nocardia, Rhodococcus, Gordonia, Actinomadura, Streptomyces, and Other Aerobic Actinomycetes Manual of Clinical Microbiology 11 edition 2015* Washington DC Press
- Magnusson,H. 1923.**Spezifische infektiöse Pneumonie beim Fohlen. Ein Neuer Eitererreger beim Pferd. *Arch. Wiss. Prakt.Tierheilkd.* **50**:22-37.
- Prescott,J.F. 1991** : *Rhodococcus equi* : an animal and human pathogen . *Clin. Microbiol.Rev.***4**: 20-34
- Meyer,D.K.,Reboli, A.C.**Other Coryneform Bacteria and Rhodococci *Mandell, Douglass and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases-seventh edition 2010*, Churchill Livingstone Elsevier
- Sonnet,J., Wauters,G., Zech,F.,Gigi, J.1987** Opportunistic *Rhodococcus equi* infection in an African AIDS case (1976-1981)
Acta Clin Belg **42**: 215-216
- Ladrón N., Fernández M., Agüero J., González Zörn B., Vázquez-Boland J. A., Navas J. 2003.** Rapid identification of *Rhodococcus equi* by a PCR assay targeting the *choE* gene. *J. Clin. Microbiol.* **41**: 3241–3245.
- Alegría Puig ,C.R., Pilares, L., Marco, F., Vila, J., Martínez-Martínez, L., Navas, J. 2017** Comparison of the Vitek MS and Bruker Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry Systems for Identification of *Rhodococcus equi* and *Dietzia* spp. *J Clin Microbiol.* 2017 Jul;**55(7)**:2255-2260.

M/14598: Salmonella Chester

Nombre de participants: 80

Bruker: N = 59

Logiciel: IVD: 40
RUO: 9
IVD + RUO: 2
IVD + bioterrorisme + moisissures + mycobactéries + propre bas: 1
RUO + bioterrorisme: 6
RUO + moisissures + mycobactéries + propre base: 1

Extraction: Sans: 52
Acide formique: 5
Sans + acide formique: 2

bioMérieux N = 21

Logiciel: IVD: 19
Myla: 1
Saramis version 3.2: 1

Extraction: Sans: 18
Complet: 2
Vitek MS-CHCA: 1

Remarque: Pour la Salmonella vous retrouverez un certain nombre d'espèces dans le toolkit (*S. arizonae*, *S. bongori*, *S. choleraesuis*, *S. enterica*, *S. enteritidis*, *S. paratyphi*, *S. subterranea*, *S. typhi*, *S. typhimurium*). Pour les autres Salmonella vous choisissez *Salmonella* species, vous trouverez la manière de répondre ces espèces dans la brochure générale des EEQ de microbiologie à la page suivante: https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/brochures/_fr/brochures.htm

Résultat final (répondu en routine)

Bruker

Pas répondu en routine: N = 1

Répondu en routine: N = 58

Réponses fournies:

Réponse	N labos
<i>Salmonella species</i>	51
<i>Salmonella enterica</i>	6
<i>Salmonella arizonae</i>	1
Total	56

bioMérieux

Répondu en routine in routine: N = 21

Réponses fournies:

Réponse	N labos
<i>Salmonella species</i>	20
<i>Salmonella enterica</i>	1
Total	21

Résultats techniques obtenus avec l'appareil de Bruker

Nous n'avons pas constaté de différences entre les versions utilisées des logiciels IVD et RUO: les différentes réponses ont été obtenues par des laboratoires avec différentes versions des logiciels.

Laboratoires qui ne fourniraient pas de résultat en routine (N = 1)

1^e résultat: *S typhi* score: 2.226

2^e résultat: *S typhi* score: 2.216

3^e résultat: *S choleraesuis* score: 2.165

Consistence with score: B

Le laboratoire mentionne comme tests préliminaires: TSI, citrate, LDC, agglutination antisérum Vi. Si les tests sont compatibles avec *S. typhi* nous la répondons. Mais la souche est envoyée dans tous les cas au CNR.

Les laboratoires qui répondraient en routine *Salmonella species* (N = 51)

1^e résultat: *Salmonella species* N = 43

Score: médiane: 2.300; min: 2.050; max: 2.480

Salmonella enterica N = 7 (dont 1 *S. enterica enterica*)

Score: médiane: 2.428; min: 2.240; max: 2.482

Salmonella typhi N = 1

Score: 2.227

2^e résultat: *Salmonella species* N = 44

Score: médiane: 2.221; min: 1.980; max: 2.436

Salmonella enterica N = 3 (dont 1 *S. enterica enterica*)

Scores: 2.430,; 2.350, 2.200

Salmonella typhimurium N = 2

Scores: 2.350, 2.427

Salmonella choleraesuis N = 1

Score: 2.377

Salmonella typhi N = 1

Score: 2.377

3^e résultat: *Salmonella* species N = 43

Score: médiane: 2.139; min: 1.670; max: 2.400

Salmonella enterica N = 4 (dont 1 *S. enterica enterica*)

Scores: 2.430,; 2.384, 2. 350, 2.020

Salmonella typhimurium N = 1

Scores: 2.321

Salmonella choleraesuis N = 1

Score: 2.321

Salmonella typhi N = 1

Score: 2.152

Escherichia coli N = 1

Score: 1.871

Consistence with score: A: 31

B: 2

C: 10

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

Quels tests

<i>Test</i>	<i>N labos</i>
Envoi au CNR	23
Agglutination	6
Envoi au CNR + agglutination	7
Envoi au CNR + identification par Vitek	1
Agglutination + Api 20E + Api 32E + tartrate	1
Agglutination + LDC + ONPG + TSI	1
Envoi au CNR + agglutination + TSI	3
Envoi au CNR + agglutination + ONPG + urée	1
Envoi au CNR + agglutination + indole + urée + TSI	1
Envoi au CNR + agglutination + identification par Vitek	1
Antibiogramme	1
Total	46

Les laboratoires qui répondraient en routine *Salmonella enterica* (N = 6)

1^e résultat: *Salmonella enterica* N = 4

Scores: 2.091, 2.190, 2.220, 2.310

Salmonella choleraesuis N = 1

Score: 2.063

Salmonella species N = 1

Score: 2.080

2^e résultat: *Salmonella enterica* N = 5 (dont 1 *S. enterica diarizonae*)

Scores: 2.046, 2.085 2.110, 2.110, 2.230

Salmonella species N = 1

Score: 2.020

3^e résultat: *Salmonella enterica* N = 2 (dont 1 *S. enterica arizonae*)

Scores: 1.936, 1.966

Salmonella typhimurium N = 2

Score: 2.090, 2.100

Salmonella choleraesuis N = 1

Score: 2.230

Salmonella species N = 1

Score: 1.950

Consistence with score: A: 4

B: 1

C: 1

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

Quels tests

<i>Test</i>	<i>N labos</i>
Envoi au CNR	4
Envoi au CNR + agglutination	2
Total	6

Le laboratoire qui répondrait en routine *Salmonella arizonae* n (N = 1)

1^e résultat: *Salmonella arizonae* score: 2.257

2^e résultat: *Salmonella arizonae*: score: 2.096

3^e résultat: *Salmonella arizonae* score: 2.031

Consistence with score: A

Le laboratoire conseille de confirmer l'identification par Phoenix

Résultats techniques obtenus avec l'appareil de bioMérieux

Les laboratoires qui répondraient en routine *Salmonella species* (N = 20)

Résultat: *Salmonella species* N = 20

Laboratoires qui conseillent d'effectuer des tests complémentaires: N = 15

Laboratoires qui conseillent d'effectuer des tests complémentaires: N = 15

Quels tests

Test	N labos
Envoi au CNR	5
Agglutination	2
Envoi au CNR + agglutination	5
Envoi au CNR + Api	1
Envoi au CNR + PCR	1
Envoi au CNR + agglutination + identification par Vitek	1
Total	15

Le laboratoire qui répondrait en routine *Salmonella enterica* (N = 1)

Résultat: *Salmonella enterica*

Le laboratoire d'effectuer une agglutination.

Commentaire M/14598 *Salmonella* Chester

Parmi les 80 laboratoires ayant participé à cette enquête, 71 ont répondu *Salmonella species*, 7 ont répondu *Salmonella enterica*, 1 a répondu *Salmonella arizona* et un dernier laboratoire a choisi de ne pas répondre son résultat obtenu. Parallèlement 87% des laboratoires indiquent qu'ils feraient des tests complémentaires comme une agglutination, des tests biochimiques ou l'envoi de la souche au Centre National de Référence. Une analyse distincte selon le fournisseur du MALDI-TOF MS des résultats obtenus ne montre aucune différence.

Les réponses combinant « *Salmonella species* » ou « *Salmonella enterica* » + la réalisation de tests complémentaires sont des réponses correctes.

Le genre *Salmonella* appartient à la famille des entérobactéries et est constitué de 2 espèces, *S. enterica* et *S. bongori*. L'espèce *S. enterica* est ensuite subdivisée en 6 sous-espèces dont la principale retrouvée chez l'homme est *S. enterica* subsp. *enterica*. Finalement les sous-espèces de *S. enterica* se répartissent en sérotypes.

Actuellement la technique de MALDI-TOF MS utilisée en routine de microbiologie ne permet pas l'identification au-delà de *Salmonella species*. A notre connaissance aucune publication n'a évalué le potentiel de l'outil MALDI-TOF MS à distinguer *S. enterica* de *S. bongori*. La détermination des espèces et des sous-espèces doit se réaliser par l'intermédiaire de tests biochimiques. La détermination du sérotype

(sérovary) des *S. enterica* subsp. *enterica* se fait quant à elle par agglutination avec des antisérums spécifiques dirigés contre les antigènes somatiques (O) et contre les antigènes des flagelles (H) de la souche. Tous les sérotypes sont répertoriés dans le schéma de Kauffmann-White.

Salmonella est à l'origine de diarrhées infectieuses chez l'humain. L'identification de la souche au delà de l'espèce permet de détecter d'éventuels phénomènes épidémiques. Les tests complémentaires permettant de déterminer le sérovary peuvent être réalisés par le laboratoire lui-même ou peuvent être réalisés par l'Institut de Santé Publique, Centre National de Référence *Salmonella* & *Shigella*. Dans ce cas-ci, l'identification complète est *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Chester. Ce sérovary est relativement rare mais a déjà été décrit comme souche à l'origine d'une épidémie de gastro-entérite au Canada incluant 33 patients.

Alexia Verroken

Références

Schaumann R, Knoop N, Genzel GH, Losensky K, Rosen-kranz C, Stingu CS, Schellenberger W, Rodloff AC, Eschrich K. Discrimination of *Enterobacteriaceae* and Non-fermenting Gram negative bacilli by MALDI-TOF mass spectrometry. Open Microbiol J. 2013 ;7 :118-122.

Taylor J, Galanis E, Wilcott L, Hoang L, Stone J, Ekkert J, Quibell D, Huddleston M, McCormick R, Whitfield Y, Adhikari B, Grant CC, Sharma D. An outbreak of *Salmonella* Chester infection in Canada: rare serotype, uncommon exposure, and unusual population demographic facilitate rapid identification of food vehicle. J Food Prot. 2012;75:738-42.

https://nrchm.wiv-isp.be/nl/ref_centra_lab/salmonella_shigella/default.aspx

M/14854: Listeria monocytogenes

Nombre de participants : 79 (un laboratoire n'utilise pas de Maldi-tof pour ce genre d'échantillons)

Bruker: N = 59

Logiciel: IVD: 40
RUO: 8
IVD + RUO: 2
IVD + bioterrorisme + moisissures + mycobactéries + propre base: 1
RUO + bioterrorisme: 6
RUO + bioterrorisme + mycobactéries + moisissures: 1
RUO + moisissures + mycobactéries + propre base: 1

Extraction: Sans: 48
Acide formique: 1
Complet: 2
Sans + acide formique: 1

bioMérieux N = 20

Logiciel: IVD: 19
Myla: 1

Extraction: Sans: 17
Complet: 2
Vitek MS-CHCA: 1

Résultat final (répondu en routine)

Bruker

Pas répondu en routine: N = 3

Répondu en routine: N = 56

Réponses fournies:

Réponse	N labos
<i>Listeria monocytogenes</i>	49
<i>Listeria innocua</i>	2
<i>Listeria species</i>	5
Total	56

bioMérieux

Tous les laboratoires transféreraient la réponse en routine, qui est *Listeria monocytogenes* dans tous les cas.

Résultats techniques obtenus avec l'appareil de Bruker

Nous n'avons pas constaté de différences entre les versions utilisées des logiciels IVD et RUO: les différentes réponses ont été obtenues par des laboratoires avec différentes versions des logiciels.

Laboratoires qui ne fourniraient pas de résultat en routine (N = 3)

1^e résultat: *Listeria monocytogenes* N= 3

Scores: 2.287, 2.322, 2.399

2^e résultat: *Listeria monocytogenes* N= 3

Scores: 2.255, 2.256, 2.375

3^e résultat: *Listeria monocytogenes* N= 3

Scores: 2.233, 2.242, 2.362

Consistence with score: B3

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

Un de 2 laboratoires effectuerait un Api Coryne, l'autre enverrait les échantillons au CNR.

Laboratoires qui répondraient en routine *Listeria monocytogenes* (N = 49)

1^e résultat: *Listeria monocytogenes* N= 49

Score: médiane: 2.321; min: 2.090; max: 2.460

Listeria monocytogenes N= 45

Score: médiane: 2.281; min: 2.050; max: 2.450

Listeria innocua N= 4

Scores: 2.040, 2.070, 2.220, 2.220

2^e résultat: *Listeria monocytogenes* N= 43

Score: médiane: 2.281; min: 2.050; max: 2.450

Listeria innocua N= 4

Scores: 2.040, 2.070, 2.220, 2.220

3^e résultat: *Listeria monocytogenes* N= 43

Score: médiane: 2.247; min: 2.030; max: 2.410

Listeria innocua N= 6

Score: médiane: 2.239; min: 2.070; max: 2.370

Consistence with score: A: 27

B: 22

Laboratoires qui conseillent d'effectuer des tests complémentaires: N = 23

Quels tests

Test	N labos
Envoi au CNR	10
Envoi au CNR + β -hémolyse	1
Envoi au CNR + coloration de Gram + catalase	2
Envoi au CNR + coloration de Gram + catalase + CAMP + PCR	1
Agglutination	1
β -hémolyse + CAMP	1
β -hémolyse + coloration de Gram + motilité	1
CAMP + motilité	1
Coloration de Gram	1
Coloration de Gram + CAMP + croissance à 4°C + identification par Vitek	1
Coloration de Gram + CAMP + catalase	1
Coloration de Gram + CAMP + catalase + β -hémolyse	1
Coloration de Gram + catalase + β -hémolyse + oxidase+ esculine + glucose + VP + séquençage 16S	1
Total	23

Laboratoires qui répondraient en routine *Listeria innocua* (N = 2)

1^e résultat: *Listeria innocua* N = 1

Scores: 2.009

Listeria monocytogenes N = 41

Score: 2.253

2^e résultat: *Listeria innocua* N = 2

Scores: 1.957, 2.232

Listeria innocua N = 2

Score: Scores: 1.947, 2.226

Consistence with score: A: 4

B: 1

Un laboratoire conseille d'effectuer comme test complémentaire une galerie biochimique

Laboratoires qui répondraient en routine *Listeria species* (N = 5)

1^e résultat: *Listeria monocytogenes* N= 5

Scores: 2.050, 2.180, 2.320, 2.421, 2.441

2^e résultat: *Listeria monocytogenes* N= 3

Score: 2.140, 2.357, 2.387

Listeria innocua N = 2

Scores: 2.070, 2.260

3^e résultat: *Listeria monocytogenes* N= 5

Score: 1.970, 2.130, 2.240, 2.307, 2.379

Consistence with score: A: 1

B: 4

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

Quels tests

<i>Test</i>	<i>N labos</i>
Envoi au CNR	2
Envoi au CNR + tests biochimiques	1
β-hémolyse + catalase + API coryne	1
Total	4

Résultats techniques obtenus avec l'appareil de bioMérieux

Laboratoires qui répondraient en routine *Listeria monocytogenes* (N = 20)

Résultat: *Listeria monocytogenes* N= 20

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

Quels tests

Coloration de Gram pour confirmation
Antibiogramme + Envoi au CNR
Envoi au CNR.
Coloration de Gram + motilité + catalase + envoi au CNR
Envoi au CNR pour confirmation et sérotypage

Commentaire M/14854 Listeria monocytogenes

79 laboratoires ont participé à cette enquête et 69 (87%) ont correctement identifié la souche de *Listeria monocytogenes*. 2 laboratoires ont identifié la souche comme « *Listeria innocua*, » 5 laboratoires indiquent qu'ils répondent en routine « *Listeria species* » et finalement 3 laboratoires indiquent qu'ils effectuent des tests complémentaires avant de rendre un résultat d'identification.

Une analyse plus approfondie des réponses a permis d'observer que 20/20 utilisateurs de l'outil MALDI-TOF MS de bioMérieux ont correctement identifié la souche versus 49/56 utilisateurs de l'outil MALDI-TOF MS de Bruker. Ce dernier présente les résultats sous forme des 10 meilleurs matchs avec la base de données tout en associant un score de correspondance. *L. innocua* revient à 17 reprises dans le top 3 des résultats d'identification avec un score >2. Ceci souligne bien la difficulté par le système de faire la distinction entre les 2 espèces même en précédant l'analyse par une extraction protéique. Ojima-Kato et al. a récemment publié pouvoir distinguer *L. innocua* et *L. monocytogenes* par MALD-TOF MS mais ceci par des techniques de création de base de données et d'analyse de pics difficilement réalisable en routine de laboratoire. La distinction des 2 espèces est néanmoins primordiale pour la bonne interprétation clinique du résultat et pour des raisons épidémiologiques. Il est intéressant de se rappeler qu'une caractéristique biochimique permettant de distinguer les 2 espèces est l'hémolyse exclusivement présente chez *L. monocytogenes*.

L. innocua est très proche de *L. monocytogenes* mais généralement considéré comme non pathogène car ne semble ne pas porter les gènes de virulence décrit chez *L. monocytogenes*. De rares cas cliniques publiés décrivent néanmoins des cas de septicémies ou de méningite à *L. innocua*.

A l'invers *L. monocytogenes* est à l'origine d'une pathologie sévère appelée la Listériose affectant plus particulièrement les personnes immuno-déprimées et les femmes enceintes. Cette infection grave d'origine alimentaire peut entraîner une septicémie ou une infection du système nerveux central. Isolé dans le liquide amniotique de la femme enceinte, elle peut provoquer un avortement, un accouchement prématuré ou une infection néonatale grave. Avec une létalité entre 20 et 30% des cas, la Listériose est considérée comme un problème de santé publique et doit être surveillé.

Il est vivement recommandé d'envoyer toute souche de *Listeria* isolée à partir d'un prélèvement clinique à l'Institut de Santé Publique, Centre National de Référence (CNR) des Listéria. Le CNR réalise une identification par l'intermédiaire de tests biochimiques et si nécessaire par l'intermédiaire de tests moléculaires. Parallèlement un sérotypage est réalisé. Finalement un typage moléculaire par MLST permet une analyse plus fine de la clonalité des souches. En 2015, 85 souches de *L. monocytogenes* représentant 78 cas de Listériose humaine ont été envoyées au CNR. Neuf cas étaient materno-néonatales et 69 cas non materno-néonatale. Les sérotypes 4b et 1/2a ont été détectés dans respectivement 30,8% et 47,4% des cas.

Il convient par ailleurs de rappeler que la Listériose fait également parti des pathologies à déclarer dès confirmation diagnostique.

Alexia Verroken

Références

- Allerberger F. *Listeria*: growth, phenotypic differentiation and molecular microbiology. 2003. FEMS Immunology and Medical Microbiology, 35 :183-189.
- Favaro M, Sarmati L, Sancesario G, Fontana C. First case of *Listeria innocua* meningitis in a patient on steroids and etanercept. JMM Case Reports. 2014. Doi 10.1099 :jmmcr.0.003103.
- Ojima-Kato T, Yamamoto N, Takahashi H, Tamura H. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) can precisely discriminate the lineages of *Listeria monocytogenes* and species of *Listeria*. PLoS ONE. 2016. Doi :10.1371/journal.pone.0159730.
- Bertrand S, Mattheus W, Vanhoof R, Ceysens P-J. Jaarverslag Nationaal Referentiecentrum voor *Listeria*: *Listeria* stammen afgezonderd in België in 2015. https://nrchm.wiv-isp.be/nl/ref_centra_labo/listeria_monocytogenes/Rapporten/Forms/AllItems.aspx

M/15149: Shewanella species

Nombre de participants : 79 (un laboratoire n'utilise pas de Maldi-tof pour ce genre d'échantillons)

Bruker: N = 59

Logiciel: IVD: 40
RUO: 9
IVD + RUO: 2
IVD + bioterrorisme + moisissures + mycobactéries + propre base: 1
RUO + bioterrorisme: 6
RUO + moisissures + mycobactéries + propre base: 1

Extraction: Sans: 53
Acide formique: 4
Sans + acide formique: 2

bioMérieux N = 20

Logiciel: IVD: 19
Myla: 1
Saramis version 3.2: 1

Extraction: Sans: 17
Complet: 2
Vitek MS-CHCA: 1

Résultat final (répondu en routine)

Bruker

Pas répondu en routine: N = 43

Répondu en routine: N = 16

Réponses fournies:

Réponse	N labos
<i>Shewanella putrefaciens</i>	8
<i>Shewanella species</i>	6
<i>Shewanella algae</i>	2
Total	16

bioMérieux

Pas répondu en routine: N = 11

Répondu en routine: N = 9

Réponses fournies:

<i>Réponse</i>	<i>N labos</i>
<i>Shewanella algae</i>	8
<i>Shewanella species</i>	1
Total	9

Résultats techniques obtenus avec l'appareil de Bruker

Nous n'avons pas constaté de différences entre les versions utilisées des logiciels IVD et RUO: les différentes réponses ont été obtenues par des laboratoires avec différentes versions des logiciels.

Laboratoires qui ne fourniraient pas de résultat en routine (N = 43)

1^e résultat: *S. putrefaciens* N = 39

Score: médiane: 2.235; min: 1.979; max: 2.400

S. algae N = 4

Score: médiane: 2.020, 2.052, 2.080, 2.128

2^e résultat: *S. putrefaciens* N = 39

Score: médiane: 2.160; min: 1.917; max: 2.310

S. algae N = 4

Score: médiane: 1.974, 1.980, 2.010, 2.030

3^e résultat: *S. putrefaciens* N = 18

Score: médiane: 1.992; min: 1.800; max: 2.352

S. algae N = 25

Score: médiane: 1.980; min: 1.846; max: 2.099

Consistence with score: A: 32

Laboratoires qui conseillent d'effectuer des tests complémentaires: N = 9

Quels tests

Réponse en fonction du microbiote fécal attendu et du contexte clinique.

Croissance à 4°C, dépendance de NaCl, hémolyse

Oxidase, motilité, TSI(H₂S)

Etant donné que l'identification *Shewanella* (non pathogène dans un échantillon de selles) n'est pas validé sur notre Maldi-TOF nous confirmerions l'identification afin d'exclure une possible identification erronée d'un germe possiblement pathogène. Si l'identification est confirmée, nous le répondrions sur le protocole en cas de croissance massive et culture pure avec la mention "ceci est un indicateur d'une flore intestinale perturbée " Test complémentaires = TSI: H₂S doit être positif. Oxidase: doit être positif.

Oxidase

Gram : bacille gram négatif, Kligler: non fermentant, H₂S ++ Oxydase +, Mobile Croissance à 4°C : + pour *S. putrefaciens*, (-) pour *S. algae* Croissance à 42°C : (-) pour *S. putrefaciens*, +pour *S. algae* Maltose, Arabinose : + pour *S. putrefaciens*, (-) pour *S. algae*

Oxydase Kligler

Séquençage 16-S ARN pour validation ultérieure de l'identification par MALDI-TOF

Séquençage 16S rARN

Laboratoires qui répondraient en routine *S. putrefaciens* (N = 8)

1^e résultat: *S. putrefaciens* N = 8

Score: médiane: 2.210; min: 2.000; max: 2.312

2^e résultat: *S. putrefaciens* N = 8

Score: médiane: 2.110; min: 1.930; max: 2.320

3^e résultat: *S. putrefaciens* N = 2

Scores: 2.000, 2.120

S. algae N = 6

Score: médiane: 1.950; min: 1.871; max: 2.046

Consistance with score: A: 5

B: 3

Trois laboratoires effectueraient des tests complémentaires: deux laboratoires l'exécution de l'oxidase et un laboratoire enverrait l'échantillon au CNR

Laboratoires qui répondraient en routine *S. algae* (N = 2)

1^e résultat: *S. algae* N = 1
Score: 1.857
S. putrefaciens N = 1
Score: 2.124

2^e résultat: *S. algae* N = 1
Score: 1.888
S. putrefaciens N = 1
Score: 2.109

3^e résultat: *S. algae* N = 1
Score: 1.511
S. putrefaciens N = 1
Score: 2.048

Consistence with score: B: 2

Le laboratoire qui a obtenu *S. putrefaciens* conseille d'effectuer une identification sur Vitek2.

Laboratoires qui répondraient en routine *Shewanella* species (N = 6)

1^e résultat: *S. putrefaciens* N = 5
Scores: 2.170, 2.180, 2.210, 2.229, 2.306
S. algae N = 1
Score: 1.962

2^e résultat: *S. putrefaciens* N = 5
Scores: 1.912, 2.100, 2.160, 2.171, 2.242
S. algae N = 1
Score: 2.070

3^e résultat: *S. putrefaciens* N = 3
Scores: 1.833, 2.010, 2.150
S. algae N = 3

Score: 1.951, 1.990, 2.020

Consistence with score: B: 4

B: 2

Quatre laboratoires effectueraient des tests complémentaires: deux laboratoires l'exécution d'une séquençage16S, un laboratoire la coloration de Gram et un laboratoire l'identification par Vitek2

Résultats techniques obtenus avec l'appareil de bioMérieux

Laboratoires qui ne fourniraient pas de résultat en routine (N = 11)

Résultat: *S. algae* N = 11

Un laboratoire effectuerait un contrôle de la présence de H₂S sur TSI.

Laboratoires qui répondraient en routine *S. algae* (N = 8)

Résultat: *S. algae* N = 8

Aucun laboratoire n'effectuerait des tests complémentaires

Le laboratoire qui répondrait en routine *Shewanella species* (N = 1)

Résultat: *S. algae*

Le laboratoire confirmerait l'identification par Vitek2.

Commentaire M/15149 *Shewanella algae*

L'organisme décrit dans le passé comme *Pseudomonas putrefaciens*, *Alteromonas putrefaciens*, *Achromobacter putrefaciens*, CDC groupe *lb*, a été classé dans le genre *Shewanella* qui comprend plus de 50 espèces .

Shewanella putrefaciens comprenait 2 biotypes : CDC biotype I et II. CDC biotype I correspond actuellement à *Shewanella putrefaciens sensu stricto*, CDC biotype II, à une nouvelle espèce : *Shewanella alga* , renommée *Shewanella algae* .(1)

Shewanella putrefaciens et *algae* sont des bacilles Gram négatif, non fermentants , mobiles, oxydase positive. Les 2 espèces de *Shewanella* sont productrices d'H₂S, caractère unique parmi les bacilles Gram négatif non fermentants. Les 2 espèces sont pigmentées (pigment brun). La phosphatase alcaline, la gélatinase, les trypsine et pyrrolidonyl aminopeptidases et l'ornithinedécarboxylase sont positives.

Les caractères distinguant les deux espèces sont les suivants : **Shewanella algae** est asaccharolytique et halophile, tandis que **Shewanella putrefaciens** est saccharolytique et ne requiert pas de NaCl pour sa croissance. (2)

L'habitat de **Shewanella algae** est marin. **Shewanella putrefaciens** est retrouvé aussi bien dans des eaux douces que dans des eaux marines.

La principale espèce isolée en pathologie humaine est **Shewanella algae**. (77% des cas). **Shewanella putrefaciens** représente la majorité des isolats environnementaux et animaux . (89%).(3)

Les 2 espèces ont été incriminées dans des infections cutanées et des tissus mous, des otites moyennes, des infections oculaires, des ostéomyélites, des septicémies, des péritonites, des infections des voies biliaires .(4)

Récemment une septicémie à **Shewanella algae** suite à la consommation de poisson cru, a été rapportée chez un patient en insuffisance rénale terminale (5). D'où l'intérêt de le rechercher dans les selles en présence de gastroentérite après consommation de poissons ou crustacés d'eau de mer.

Il est difficile de différencier les deux espèces par spectrométrie de masse. (6)

Dans la base de données Vitek MS, il y a que 2 espèces : **Shewanella algae** et **Shewanella putrefaciens**, tandis que la base de données du Maldi Biotyper propose : **S. algae** (1 MSP), **S. baltica** (1MSP), **S. fidelis** (1MSP), **S. frigidimarina** (1MSP), **S. profunda** (1MSP), **S. putrefaciens** (4MSP). (MSP=Main spectra)

Si l'identification d'espèce est exigée, il faut effectuer des tests supplémentaires : croissance à 42°C, halophilie, séquençage 16S ARNr.

Pour la souche **M/15149 Shewanella algae**, l'identification a été confirmée par séquençage 16S ARNr. 100% des 19 utilisateurs de Vitek-MS l'ont identifié correctement au niveau de l'espèce. Pour les 59 laboratoires utilisant le Maldi-Biotyper (Brüker) : 10 % (6/59) ont eu comme premier résultat (meilleur match) **Shewanella algae** et 90% (53/59) **Shewanella putrefaciens**.

	Shewanella algae	Shewanella putrefaciens
1 ^e « match »	10%	90%
2 ^e « match »	10%	90%
3 ^e « match »	59%	41%

Cette manque de cohérence impose, soit de répondre **Shewanella sp.** , soit d'effectuer des tests supplémentaires pour préciser l'espèce.

A. Boeras, Clinique St-Joseph, Liège

Nozue H, Hayashi T, Hashimoto Y, Ezaki T, Hamasaki K, Ohwa K, Terawaki Y. 1992 Isolation and characterisation of *Shewanella alga* from human clinical specimens and emendation of the description of *S. alga* Simidu et al. 1990, 335. *Int J Syst Bacteriol* **42** :628-634

Vanechoute M, Nemec A, Kämpfer P, Cools P, Wauters G : *Acinetobacter, Chryseobacterium, Moraxella, and Other Nonfermentative Gram-Negative Rods Manual of Clinical Microbiology 11 edition 2015*, Washington DC Press

Khashe S, Janda JM. 1998. Biochemical and pathogenic properties of *Shewanella alga* and *Shewanella putrefaciens*. *J Clin Microbiol* **36**: 783-787

Vignier N, Barreau M, Olive C, Baubion E, Théodose H, Hochedez P, Cabié A 2013 Human infection with *Shewanella putrefaciens* and *S. alga*; report of 16 cases in Martinique and review of literature. *Am J Trop Med Hyg* **89**: 151-156

Tomoaki T, Hiroki C, Shota M, Shintaro H, Shotaro H, Takuji I, Takeaki F, Tomomitsu M, Satoko F, Chishio M, Hajime I 2017 *Shewanella alga* bacteriemia in end stage renal disease patient : a case report and review of the literature. *Intern Med* **56** : 729-732

Jung-Hyun B, Hyunwoong P, Sunjoo K 2017 The phantom menace for patients with hepatobiliary diseases : *Shewanella haliotis*, often misidentified as *Shewanella alga* in biochemical tests and MALDI TOF analysis . *Jpn J Infect Dis* **70**: 177-180.

M/15165: Streptococcus dysgalactiae

Nombre de participants : 79 (un laboratoire n'utilise pas de Maldi-tof pour ce genre d'échantillons)

Bruker: N = 59

Logiciel: IVD: 40
RUO: 9
IVD + RUO: 2
IVD + bioterrorisme + moisissures + mycobactéries + propre base: 1
RUO + bioterrorisme: 5
RUO + bioterrorisme + mycobactéries + moisissures: 1
RUO + moisissures + mycobactéries + propre base: 1

Extraction: Sans: 51
Acide formique: 7
Sans + acide formique: 1

bioMérieux N = 20

Logiciel: IVD: 19
Myla: 1

Extraction: Sans: 17
Complet: 2
Vitek MS-CHCA: 1

Résultat final (répondu en routine)

Bruker

Pas répondu en routine: N = 4
Répondu en routine: N = 55

Réponses fournies:

Réponse	N labos
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	52
<i>Streptococcus dysgalactiae dysgalactiae</i>	1
<i>Streptococcus dysgalactiae equisimilis</i>	1
<i>Streptococcus species</i>	1
Total	55

bioMérieux

Pas répondu en routine: N = 1
Répondu en routine: N = 19

Réponses fournies:

Réponse	N labos
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	13
<i>Streptococcus dysgalactiae dysgalactiae</i>	2
<i>Streptococcus dysgalactiae equisimilis</i>	3
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1
Total	19

Résultats techniques obtenus avec l'appareil de Bruker

Nous n'avons pas constaté de différences entre les versions utilisées des logiciels IVD et RUO: les différentes réponses ont été obtenues par des laboratoires avec différentes versions des logiciels.

Laboratoires qui ne fourniraient pas de résultat en routine (N = 4)

1^e résultat: *S. dysgalactiae*

Score: 2.120, 2.199, 2.287, 2.325

2^e résultat: *S. dysgalactiae* (dont 2 *Streptococcus dysgalactiae equisimilis*)

Scores: 2.120, 2.186, 2.258, 2.272

3^e résultat: *S. dysgalactiae*

Scores: 2.050, 2.111, 2.229, 2.241

Consistence with score: A: 3

B: 1

Deux laboratoires effectueraient une agglutination et un laboratoire utiliserait un disque de bacitracine pour distinguer *S. dysgalactiae* et *pyogenes/canis*.

Laboratoires qui répondraient en routine *Streptococcus dysgalactiae* (N = 54)

1^e résultat: *S. dysgalactiae* N = 53

(1: *S. dysgalactiae dysgalactiae* – 6. *S. dysgalactiae equisimilis*)

Score: médiane: 2.250; min: 1.994; max: 2.460

S. pyogenes N = 1

Score: 1.841

2^e résultat: *S. dysgalactiae* N = 54

(2: *S. dysgalactiae dysgalactiae* – 6. *S. dysgalactiae equisimilis*)*Salmonella typhimurium* N = 2

Score: médiane: 2.195; min: 1.836; max: 2.430

3^e résultat: *S. dysgalactiae* N = 53

(1: *S. dysgalactiae dysgalactiae* – 10. *S. dysgalactiae equisimilis*)

Score: médiane: 2.160; min: 1.880; max: 2.360

S. pyogenes N = 1

Scores: 1.789

Consistence with score: A: 48

B: 5

C: 1

Laboratoires qui conseillent d'effectuer des tests complémentaires: N = 19

Quels tests

<i>Test</i>	<i>N labos</i>
Agglutination pour détermination du groupe Lancefield	9
Agglutination pour détermination du groupe Lancefield + envoi au CNR	1
Agglutination pour détermination du groupe Lancefield + identification par Vitek	1
Agglutination pour détermination du groupe Lancefield + disque bacitracine + coloration de Gram + Pyrrolidonyl Aminopeptidase + CAMP-factor	1
Envoi au CNR	1
Disque bacitracine	1
Disque bacitracine + identification par Vitek	1
Disque bacitracine + antibiogramme	1
PYR test	1
B-hémolyse	1
Identification par Phoenix	1
Total	19

Le laboratoire qui répondrait en routine *Streptococcus* species (N = 1)

1^e résultat: *S. dysgalactiae*

Score: 2.344

2^e résultat: *S. dysgalactiae equisimilis*

Score: 2.316

3^e résultat: *S. dysgalactiae*

Score: 2.282

Consistence with score: B

Le laboratoire n'effectuerait pas de tests complémentaires

Résultats techniques obtenus avec l'appareil de bioMérieux

Laboratoires qui ne fourniraient pas de résultat en routine (N = 1)

Résultat: *S. dysgalactiae*

Le laboratoire effectuerait l'identification par Vitek 2 étant donné que le Mauditof ne sait pas faire la distinction entre *S. dysgalactiae dysgalactiae* et *S. dysgalactiae equisimilis*.

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

Quels tests

Latex agglutination + PYR A

Antibiogramme + envoi au CNR

Le Vitek MS ne sait pas faire la distinction entre *Streptococcus dysgalactiae equisimilis* et *Streptococcus dysgalactiae dysgalactiae*. Pour cette raison nous effectuons un sérotypage Lancefield qui a donné group G comme résultat.

Contrôle β -hémolyse

Coloration de Gram

Envoi CR pour confirmation de la sous espèce et détermination de la nature invasive éventuelle

Le laboratoire qui répondrait en routine *S. pyogenes* (N = 1)

Résultat: *S. pyogenes*

Le laboratoire n'effectuerait pas de tests complémentaires.

Commentaire M/15165 *Streptococcus dysgalactiae*.

La souche M/15165 était un *Streptococcus dysgalactiae*

La place de cette espèce dans le groupe des streptocoques a été amplement discutée dans le rapport de l'EEQ 2013/3. Il s'agissait de la souche M/12141 qui était atypique et qui a bien illustré que le sérotypage et la bacitracine ne sont pas parfaits pour distinguer cette espèce de quelques espèces apparentées: *S. dysgalactiae ssp.dysgalactiae* peut également agglutiner avec le sérum A (mais il s'agit d'un espèce qui n'est isolée que rarement chez l'homme). La sensibilité à la bacitracine et un test de Pyronidonyl positif ne sont pas exclusifs pour *S. pyogenes*, mais *S. pyogenes* est toujours positif pour ces 2 caractéristiques.

D'un autre côté on peut lire dans ce rapport que la distinction entre *S. pyogenes* et *S. dysgalactiae* n'est pas cruciale pour les conséquences cliniques : les 2 espèces causent les mêmes infections, même celles avec des conséquences sévères. Il reste

cependant intéressant surtout d'un point de vu épidémiologique de connaître l'espèce correcte; nous ne pouvons que conseiller d'envoyer les souches qui causent un choc septique ou une cellulite sévère à un laboratoire de référence.

Pouvons-nous faire confiance au Maldi-TOF pour une identification certaine de ces espèces apparentées? Notre propre expérience a montré que ce n'est pas toujours le cas. Il n'y avait pas de problème pour cette souche, soit dû à la souche elle-même, soit dû aux améliorations récentes dans la bibliothèque de référence dans les dernières mises à jour. La plupart des laboratoires ont donné une réponse correcte, à savoir *S. dysgalactiae* ou une des 2 sous-espèces: 54 sur 55 avec Bruker : 18 sur 19 avec Biomerieux.

Résumé:

Appareil Bruker

4 labos ne transfèrent pas le résultat en tant que tel en routine (mais ils conseillent des tests complémentaires); 1^e score *S. dysgalactiae*

54 labos ont répondu *S. dysgalactiae*; 53: 1^e score *S. dysgalactiae*; 1: 1^e score *S. pyogenes*

1 labo a répondu *Streptococcus species*; 1^e score *S. dysgalactiae*

Appareil bioMérieux

1 labo ne transfère pas le résultat en tant que tel en routine (mais il conseille des tests complémentaires)); résultat technique *S. dysgalactiae*

18 labos ont répondu *S. dysgalactiae*; résultat technique *S. dysgalactiae* (avec ou sans mention de la sous-espèce)

1 labo a répondu *Streptococcus species*; résultat technique *S. pyogenes*

Quelques labos ont répondu qu'ils ont effectué des tests complémentaires pour confirmation définitive; la courte description ci-dessus, et une plus ample dans la référence 1 illustrent la valeur réelle de ces tests de confirmation: ils ne sont en effet pas fiables à 100% mais peuvent néanmoins aider à l'identification. 1 labo répondrait sur base du résultat du Maldi-TOF *S.pyogenes* sans tests complémentaires (ce qui peut être défendu), 1 labo *Streptococcus species*, ce qui est beaucoup moins acceptable.

G. Claeys, UZ Gent

Références

J. Verhaegen, M/12141 *Streptococcus dysgalactiae ssp equisimilis* in het rapport van de EKE 2013/3.

Jensen A; Kilian M. Delineation of *Streptococcus dysgalactiae*, its subspecies and its clinical and phylogenetic relationship to *Streptococcus pyogenes*. J Clin Microbiol 2012, 50(1):113-126.

FIN

© Institut Scientifique de Santé Publique, Bruxelles 2017.

Ce rapport ne peut pas être reproduit, publié ou distribué sans l'accord de l'ISP. Les résultats individuels des laboratoires sont confidentiels. Ils ne sont transmis par l'ISP ni à des tiers, ni aux membres de la Commission, des comités d'experts ou du groupe de travail EEQ.