

**EXPERTISE ET PRESTATIONS DE SERVICE
QUALITE DES LABORATOIRES**

**COMMISSION DE BIOLOGIE CLINIQUE
COMITE DES EXPERTS**

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

**RAPPORT GLOBAL DEFINITIF
MALDITOF 2019**

Sciensano/Micro/Séro/Para/121-FR

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

www.sciensano.be

COMITE DES EXPERTS

SCIENSANO			
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@sciensano.be
Dr. CHINA Bernard	Coordinateur d'enquête remplaçant	TEL:	02/642.53.85
		e-mail:	bernard.china@sciensano.be
Experts	Institution		
Dr. BERTH Mario	AML Antwerpen		
Pharm. BOEL An	OLVZ Aalst		
Dr. BOELENS Jerina	UZ Gent		
Dr. BOERAS Anca	CLINIQUE ST JOSEPH Liège		
Dr. CAMPS Kim	ZNA Antwerpen		
Dr. DE BEENHOUWER Hans	OLVZ Aalst		
Dr. DE GHELDRE Yves	CHIREC Bruxelles		
Dr. DELFORGE Marie-Luce	ULB ERASME Bruxelles		
Dr. DEPYPERE Melissa	UZ Leuven		
Dr. HUANG Te-Din Daniel	UCL Mont Godinne		
Dr. MEEEX Cécile	CHU Liège		
Dr. MAGERMAN Koen	JESSA ZIEKENHUIS Hasselt		
Dr. PADALCO Elizaveta	UZ Gent		
Dr. REYNDERS Marijke	AZ SINT JAN Brugge		
Dr TRE HARDY Marie	Hôpital Iris Sud – Site Etterbeek		
Dr. VAN ACKER Jos	AZ ST LUCAS Gent		
Dr. VAN DEN BOSSCHE Dorien	ITG Antwerpen		

Dr. VAN GASSE Natasja	ZNA Antwerpen
Dr. VERROKEN Alexia	UCL Bruxelles
Pharm. VIJGEN Sara	JESSA ZIEKENHUIS Hasselt

Une version provisoire de ce rapport a été transmise aux experts à partir du 03/10/2019.

Ce rapport a été discuté lors de la réunion du comité d'experts le : 10/10/2019.

Autorisation de diffusion du rapport global provisoire le 14/10/2019.

Autorisation de diffusion de rapport: Par Kris Vernelen, le 02/01/2020



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/16154 <i>Salmonella</i> species.....	6
M/16555 <i>Aeromonas</i> species	12
M/16581 <i>Candida parapsilosis</i>	17
M/16601 <i>Streptococcus pseudopneumoniae</i>	20
M/16603 <i>Bacillus cereus</i>	27

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 Mauditof.

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

M/16154: selles
M/16555: écouvillon plaie
M/16581: hémoculture
M/16601: échantillon respiratoire
M/16603: 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 Mauditof; il pouvait donc être possible ou même probable qu'un laboratoire réponde ne pas communiquer le résultat de l'appareil en routine.:**

Les germes envoyés étaient

M/16154: *Salmonella* species
M/16555: *Aeromonas* species
M/16581: *Candida parapsilosis*
M/16601: *Streptococcus pseudopneumoniae*
M/16603: *Bacillus cereus*

II. Les résultats

89 laboratoires ont participé à cette enquête: 65 utilisent l'appareil de Bruker et 24 l'appareil de bioMérieux.

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/16154 *Salmonella* species

Nombre de participants: 89

Bruker N = 65

Logiciel: IVD: 39
RUO: 16
IVD + RUO: 3
IVD + RUO + bioterrorisme: 1
RUO + bioterrorisme: 2
RUO + bioterrorisme + moisissures: 1
RUO + bioterrorisme + moisissures + mycobactéries: 2
RUO + bioterrorisme + moisissures + mycobactéries + propre base: 1

Extraction: Sans: 58
Acide formique:6
Sans + acide formique: 1

bioMérieux N = 24

Logiciel: IVD: 23
Myla: 1

Extraction: Sans: 24

Résultat final (répondu en routine)

Bruker

Pas répondu en routine: N = 1

Répondu en routine: N = 64

Réponses fournies:

<i>Réponse</i>	<i>N labos</i>
<i>Salmonella</i> species	62
<i>Salmonella enterica</i>	2
Total	64

bioMérieux

Répondu en routine: N = 24

Réponses fournies:

<i>Réponse</i>	<i>N labos</i>
<i>Salmonella</i> species	11
<i>Salmonella enterica</i>	2
<i>Salmonella enterica enterica</i>	7
<i>Salmonella enteritidis</i>	4
Total	24

Résultats techniques obtenus avec l'appareil de Bruker

1) Le laboratoire qui ne fournirait pas de résultat en routine

1^e résultat: *Salmonella* species Score: 2.33
2^e résultat: *Salmonella* species Score: 2.27
3^e résultat: *Salmonella* species Score: 2.22
Consistence with score: A

Le laboratoire conseille d'effectuer comme test complémentaire l'agglutination (pour faire la distinction entre typhi et non-typhi) et après d'envoyer l'échantillon au centre de référence (CNR : Centre National de Référence).

2) Les laboratoires qui répondraient en routine *Salmonella enterica* (N = 2)

1^e labo

1^e résultat: *Salmonella enterica* Score: 2.29
2^e résultat: *Salmonella enterica diarizonae* Score: 2.26
3^e résultat: *Salmonella enterica* Score: 2.24
Consistence with score: A

Ce laboratoire ne conseille pas de tests complémentaires.

2^e labo

1^e résultat: *Salmonella* species Score: 2.37
2^e résultat: *Salmonella* species Score: 2.29
3^e résultat: *Salmonella* species Score: 2.27
Consistence with score: A

Ce laboratoire conseille d'envoyer en routine l'échantillon au centre de référence.

3) Les laboratoires qui répondraient en routine *Salmonella* species (N = 62)

1^e résultat: *Salmonella* species N = 48
Score: médiane: 2.33; min: 2.15; max: 2.54
Salmonella enterica N = 10 (1 labo: *S. enterica diarizonae*)
Score: médiane: 2.37; min: 2.23; max: 2.42
Salmonella typhi N = 4
Scores: 2.29, 2.35, 2.40, 2.46
Deux de ces laboratoires utilisent entre autre la base de données bioterrorisme.

2^e résultat: *Salmonella* species N = 50
Score: médiane: 2.30; min: 2.15; max: 2.39
Salmonella enterica N = 6 (2 labos: *S. enterica enterica*)
Score: médiane: 2.27; min: 2.22; max: 2.40
Salmonella enteritidis N = 2
Scores: 2.26, 2.35
Salmonella choleraesuis N = 2
Scores: 2.18, 2.31
Salmonella typhi N = 2
Scores: 2.22, 2.31
Un de ces laboratoires utilise entre autre la base de données bioterrorisme.

3^e résultat: *Salmonella* species N = 48
 Score: médiane: 2.21; min: 2.05; max: 2.42
Salmonella typhi N = 5
 Scores: 2.19, 2.25, 2.30, 2.36, 2.38
 Deux de ces laboratoires utilisent entre autre la base de données
 bioterrorisme.
Salmonella enterica N = 3
 Scores: 2.14, 2.24, 2.25
Salmonella enteritidis N = 3
 Scores: 2.24, 2.26, 2.27
Salmonella choleraesuis N = 2
 Scores: 2.15, 2.32
Salmonella typhimurium N = 1
 Score: 2.36

Consistence with score: A: 57
 B: 4
 C: 1

Laboratoires qui conseillent d'effectuer des tests complémentaires: N = 57. Le résumé est repris dans le tableau ci-dessous.

Test	N labos
Agglutination/sérotypage	5
Agglutination + envoi au CNR	17
Agglutination + envoi au CNR + TSI	2
Agglutination + envoi au CNR + tests biochimiques	1
Agglutination + envoi au CNR + antibiogramme	1
Agglutination + API 32 E	1
Envoi au CNR	18
Envoi au CNR + antibiogramme	7
Envoi au CNR + antibiogramme + Phoenix	1
Envoi au CNR + API 32 E	1
Envoi au CNR + tests biochimiques	1
Tests biochimiques	2
Total	57

Résultats techniques obtenus avec l'appareil de bioMérieux

1) Les laboratoires qui répondraient en routine *S. enterica enterica* (N = 7)

Résultat: *S. enterica enterica* N = 7
 Deux laboratoires conseillent d'effectuer comme test complémentaire l'agglutination, deux laboratoires conseillent d'envoyer l'échantillon au CNR et un laboratoire d'effectuer l'agglutination et d'envoyer l'échantillon au CNR.

2) Les laboratoires qui répondraient en routine *S. enterica* (N = 2)

Résultat: *S. enterica enterica* N = 1
S. enterica N = 1
 Les deux laboratoires conseillent d'envoyer l'échantillon au CNR.

3) Les laboratoires qui répondraient en routine *S. enteritidis* (N =

Résultat: *S. enterica* N = 2
Salmonella species N = 2
Les 4 laboratoires conseillent d'effectuer comme test complémentaire l'agglutination.

4) Les laboratoires qui répondraient en routine *Salmonella species* (N = 11)

Résultat: *S. enterica enterica* N = 7
Sept laboratoires conseillent d'effectuer des tests complémentaires : 5 d'envoyer l'échantillon au CNR, 1 laboratoire envoi au CNR + agglutination, 1 laboratoire envoi au CNR + agglutination + TSI
Salmonella species N = 4
Deux laboratoires conseillent d'envoyer l'échantillon au CNR.

Commentaire M/16154 *Salmonella species*

Alexia Verroken

La réponse « *Salmonella species* » est la réponse correcte. C'est ce qui peut être validé à partir des résultats obtenus par analyse MALDI-TOF MS.

Parmi les 89 laboratoires ayant participé à cette enquête, 73 ont répondu *Salmonella species*, 4 ont répondu *Salmonella enterica*, 7 ont répondu *Salmonella enterica enterica*, 4 ont répondu *Salmonella Enteritidis* et finalement 1 a choisi ne pas répondre en routine le résultat obtenu.

Une analyse distincte selon le fournisseur du MALDI-TOF MS des résultats obtenus, montre que 62/65 des utilisateurs d'un MALDI-TOF MS de Bruker répondent *Salmonella species* versus 11/24 des utilisateurs d'un MALDI-TOF MS de bioMérieux.

Parallèlement 91% 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 (CNR).

Nous vous renvoyons au commentaire de la souche M/14598 *S. enterica subsp. enterica* sérovar Chester M/14598 repris dans le rapport global définitif MALDI-TOF MS 2017 .

Dans ce cas-ci, des tests complémentaires réalisés au CNR ont permis de compléter le résultat d'identification et de conclure sur une *Salmonella enterica subsp. enterica* sérovar enteritidis.

« 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.

Acutellement 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 (sérovar) 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 sérovar peuvent être réalisés par le laboratoire lui-même ou peuvent être réalisés par Sciensano, Centre National de Référence Salmonella & Shigella.

Bibliographie

- 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/fr/centres_ref_lab/salmonella_et_shigella_spp/ »

M/16555 *Aeromonas* species

Nombre de participants: 89

Bruker N = 65

Logiciel: IVD: 40
RUO: 16
IVD + RUO: 3
RUO + bioterrorisme: 2
RUO + bioterrorisme+ moisissures: 1
RUO + bioterrorisme+ moisissures + mycobactéries: 2
RUO + bioterrorisme + moisissures + mycobactéries + propre base: 1

Extraction: Sans: 56
Acide formique: 9

bioMérieux N = 24

Logiciel: IVD: 23
Myla: 1

Extraction: Sans: 24

Résultat final (répondu en routine)

Bruker

Pas répondu en routine: N = 1

Répondu en routine: N = 64

Réponses fournies:

<i>Réponse</i>	<i>N labos</i>
<i>Aeromonas species</i>	41
<i>Aeromonas caviae</i>	23
Total	64

bioMérieux

Répondu en routine: N = 24

Réponses fournies:

<i>Réponse</i>	<i>N labos</i>
<i>Aeromonas punctata caviae</i>	5
<i>Aeromonas punctata</i>	10
<i>Aeromonas caviae</i>	6
<i>Aeromonas hydrophila</i>	3
Total	24

Résultats techniques obtenus avec l'appareil de Bruker

1) Le laboratoire qui ne fournirait pas de résultat en routine

1^e résultat: *Aeromonas caviae* Score: 2.21
2^e résultat: *Aeromonas caviae* Score: 2.19
3^e résultat: *Aeromonas caviae* Score: 2.09
Consistence with score: A

Le laboratoire conseille d'identifier le germe par API 20 E.

2) Les laboratoires qui répondraient en routine *Aeromonas* species (N = 41)

1^e résultat: *Aeromonas caviae* N = 39
Score: médiane: 2.31; min: 1.96; max: 2.43
Aeromonas hydrophila N = 2
Scores: 2.00, 2.01

2^e résultat: *Aeromonas caviae* N = 34
Score: médiane: 2.26; min: 1.94; max: 2.34
Aeromonas hydrophila N = 7 (1 labo: *A. hydrophila hydrophila*, 1 labo: *A. hydrophila anaerogenes*)
Score: médiane: 2.13; min: 1.91; max: 2.26

3^e résultat: *Aeromonas caviae* N = 9
Score: médiane: 2.13; min: 1.92; max: 2.33
Aeromonas hydrophila N = 30 (4 labos: *A. hydrophila anaerogenes*)
Score: médiane: 2.14; min: 1.84; max: 2.26
Aeromonas jandaei N = 1
score: 1.79
Aeromonas species N = 1
score: 2.25

Consistence with score: A: 29
B: 12

Laboratoires qui conseillent d'effectuer des tests complémentaires: N = 9. Le résumé est repris dans le tableau ci-dessous.

Test	N labos
Antibiogramme	3
Antibiogramme + Phoenix	1
Antibiogramme + séquençage16 S	1
Oxydase	1
Oxydase + séquençage16 S	1
Tests biochimiques	2
Total	9

3) Les laboratoires qui répondraient en routine *Aeromonas caviae* (N = 23)

- 1^e résultat: *Aeromonas caviae* N = 23
Score: médiane: 2.30; min: 2.12; max: 2.39
- 2^e résultat: *Aeromonas caviae* N = 20
Score: médiane: 2.27; min: 2.09; max: 2.36
Aeromonas hydrophila N = 3 (1 labo: *A. hydrophila anaerogenes*)
scores: 2.11, 2.21, 2.21
- 3^e résultat: *Aeromonas caviae* N = 11
Score: médiane: 2.20; min: 2.00; max: 2.28
Aeromonas hydrophila N = 12 (3 labos: *A. hydrophila anaerogenes*)
Score: médiane: 2.19; min: 2.10; max: 2.25
- Consistence with score: A: 20
B: 3

Laboratoires qui conseillent d'effectuer des tests complémentaires: N = 4. Le résumé est repris dans le tableau ci-dessous.

Test	N labos
Antibiogramme	2
Oxydase	1
Tests biochimiques	1
Total	4

Résultats techniques obtenus avec l'appareil de bioMérieux

1) Les laboratoires qui répondraient en routine *Aeromonas punctata* (N = 10)

Résultat: *Aeromonas punctata* N = 9
Aeromonas punctata caviae N = 1
Un laboratoire conseille la détermination de l'oxydase.

2) Les laboratoires qui répondraient en routine *Aeromonas punctata caviae* (N = 5)

Résultat: *Aeromonas punctata caviae* N = 5
Un laboratoire conseille la détermination de l'oxydase.

3) Les laboratoires qui répondraient en routine *Aeromonas caviae* (N = 6)

Résultat: *Aeromonas caviae* N = 3
Aeromonas punctata N = 3
Aucun laboratoire ne conseille des tests complémentaires.

4) Les laboratoires qui répondraient en routine *Aeromonas hydrophila* (N = 3)

Résultat: *Aeromonas hydrophila* N = 2
Aeromonas hydrophila caviae N = 1
Aucun laboratoire ne conseille des tests complémentaires.

Commentaire M/16555 *Aeromonas species*

Les *Aeromonas* sont des bactéries à Gram négatif anaérobies facultatives, retrouvées de manière ubiquitaire dans l'environnement aquatique. Les *Aeromonas* sont à l'origine de manifestations cliniquement significatives telles que les infections des voies hépato-biliaires, gastro-entérites, infections des tissus mous et bactériémies. De nombreuses espèces sont

décrites mais trois d'entre elles sont majoritairement responsables des pathologies humaines : *A. hydrophila*, *A. caviae* et *A. veronii* biovar *sobria*.

L'identification des *Aeromonas* est difficile par méthodes biochimiques conventionnelles, à l'espèce mais parfois aussi au genre. Le séquençage du gène 16SrRNA ne permet pas toujours une identification précise à l'espèce en raison de la similarité des séquences, différant parfois de seulement quelques nucléotides entre les espèces. Certaines méthodes moléculaires telles que le séquençage de gènes de ménage permettent de meilleurs résultats mais sont difficiles à implémenter dans un laboratoire de routine.

Actuellement, la spectrométrie de masse MALDI-TOF est l'outil le plus efficace pour l'identification des *Aeromonas* au laboratoire. Avec les dernières bases de données disponibles sur le marché, le taux d'identifications correctes à l'espèce dépasse les 90%. *Aeromonas hydrophila* et *veronii* sont particulièrement bien identifiés, alors qu'*Aeromonas caviae* reste parfois mal discriminé.

La souche clinique envoyée dans le cadre du contrôle de qualité n'avait pas été identifiée formellement à l'espèce ni par MALDI-TOF MS ni par séquençage du gène 16sRNA. Elle illustre la difficulté d'identification définitive à l'espèce dans les laboratoires de routine bactériologique.

La variabilité des identifications à l'espèce rendues par les 2 systèmes MALDI-TOF MS disponibles sur le marché incite à la prudence. Dans la plupart des cas, la recommandation sera dès lors de ne pas rendre d'identification à l'espèce pour le genre *Aeromonas*. Dans le cadre des diarrhées, par exemple, la signification clinique de l'isolement d'un *Aeromonas* au niveau des selles n'est pas corrélée à l'espèce en cause. Par contre, l'identification à l'espèce serait intéressante dans certains cas particuliers : infections invasives chez le patient immunodéprimé, en raison du pouvoir pathogène plus important de certaines espèces (*A. hydrophila* et *veronii*) ou en cas de diarrhées chroniques (>1an), pour démontrer la persistance du même agent pathogène au cours du temps. Il est à souhaiter que l'amélioration continue des bases de données des fabricants de MALDI-TOF MS nous facilite cette tâche dans le futur.

La réalisation d'un antibiogramme est toujours nécessaire car des résistances acquises à plusieurs classes d'antibiotiques existent. Bien que des variations de sensibilité aux antibiotiques entre les espèces ont été décrites, aucune association n'a été formellement établie.

Références

- [1] Shin HB, Yoon J, Lee Y, et al. Comparison of maldi-tof ms, housekeeping gene sequencing, and 16s rRNA gene sequencing for identification of *Aeromonas* clinical isolates. *Yonsei Med. J.* 2015;56:550–555.
- [2] Janda JM, Abbott SL. Evolving Concepts Regarding the Genus *Aeromonas* : An Expanding Panorama of Species, Disease Presentations, and Unanswered Questions . *Clin. Infect. Dis.* 1998;27:332–344.
- [3] Chen PL, Ko WC, Wu CJ. Complexity of β -lactamases among clinical *Aeromonas* isolates and its clinical implications. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* [Internet]. 2012;45:398–403. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmii.2012.08.008>.

Cécile Meex
06/11/2019

M/16581 *Candida parapsilosis*

Nombre de participants: 89

Bruker N = 65

Logiciel: IVD: 39
RUO: 18
IVD + RUO: 3
RUO + bioterrorisme: 2
RUO + bioterrorisme+ moisissures: 1
RUO + bioterrorisme+ moisissures + mycobactéries: 1
RUO + bioterrorisme + moisissures + mycobactéries + propre base: 1

Extraction: Acide formique: 33
Sans: 30
Acide formique + sans : 1
Complète: 1

bioMérieux N = 24

Logiciel: IVD: 23
Myla: 1

Extraction: Acide formique: 22
Sans: 2

Résultat final (répondu en routine)

Bruker

Pas répondu en routine: N = 1

Répondu en routine: N = 64

Réponses fournies:

Réponse	N labos
<i>Candida parapsilosis</i>	61
<i>Candida species</i>	1
<i>Bacillus cereus</i>	2
Total	64

Trois laboratoires (les 2 laboratoires qui ont répondu *B. cereus* et le labo qui ne transférerait le résultat pas en routine mais qui a obtenu comme résultat technique également *Bacillus*) ont probablement inversé les échantillons M/16581 et M/16603.

bioMérieux

Tous les laboratoires transféreraient la réponse en routine.

Réponses fournies:

Réponse	N labos
<i>Candida parapsilosis</i>	24
Total	24

Résultats techniques obtenus avec l'appareil de Bruker

1) Les laboratoires qui répondraient en routine *Candida species*

1^e résultat: *Candida species* Score: 1.90
2^e résultat: *Candida species* Score: 1.82
3^e résultat: *Candida species* Score: 1.86
Consistence with score: A

Le laboratoire conseille d'identifier le germe par une galerie de sucres.

2) Les laboratoires qui répondraient en routine *Candida parapsilosis* (N = 61)

1^e résultat: *Candida parapsilosis* N = 61
Score: médiane: 2.13; min: 1.87; max: 2.30

2^e résultat: *Candida parapsilosis* N = 61
Score: médiane: 2.06; min: 1.75; max: 2.27

3^e résultat: *Candida parapsilosis* N = 61
Score: médiane: 2.02; min: 1.58; max: 2.24

Consistence with score: A: 57
B: 4

Laboratoires qui conseillent d'effectuer des tests complémentaires: N = 13. Le résumé est repris dans le tableau ci-dessous.

Test	N labos
Fongigramme	8
ChromAgar	3
Envoi au CNR ¹	2
Total	13

¹ Un de ces 2 laboratoires mentionne explicitement « pour l'exécution du fongigramme ».

Résultats techniques obtenus avec l'appareil de bioMérieux

Les laboratoires qui répondraient en routine *Candida parapsilosis* (N = 24)

Résultat: *Candida parapsilosis* N= 24

Deux laboratoires conseillent d'envoyer l'échantillon en routine au CNR, un laboratoire contrôlerait la croissance sur, CanIDagar.

Commentaire M/16851 *Candida parapsilosis*

L'identification de cette souche n'a posé aucun problème, quel que soit l'appareil utilisé.

M/16601 *Streptococcus pseudopneumoniae*

Nombre de participants : 88 (un utilisateur de Bruker a mentionné ne pas utiliser de Mauditof pour ce genre d'échantillons)

Bruker: N = 64

Logiciel: IVD: 38
RUO: 17
IVD + RUO: 3
RUO + bioterrorisme: 2
RUO + bioterrorisme+ moisissures: 1
RUO + bioterrorisme+ moisissures + mycobactéries: 2
RUO + bioterrorisme + moisissures + mycobactéries + propre base: 1

Extraction: Sans: 53
Acide formique: 9
Complète: 1
Sans + Acide formique: 1

bioMérieux N = 24

Logiciel: IVD: 23
Myla: 1

Extraction: Sans: 24

Résultat final (répondu en routine)

Bruker

Pas répondu en routine: N = 29

Répondu en routine: N = 35

Réponses fournies:

Réponse	N labos
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	16
<i>Streptococcus pseudopneumoniae</i>	12
<i>Streptococcus mitis</i>	1
<i>Streptococcus species</i>	6
Total	35

bioMérieux

Pas répondu en routine: N = 6

Répondu en routine: N = 18

Réponses fournies:

Réponse	N labos
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2
<i>Streptococcus pseudopneumoniae</i>	16
Total	18

Résultats techniques obtenus avec l'appareil de Bruker

1) Les laboratoires qui ne fourniraient pas de résultat en routine (N = 29)

1^e résultat: *Streptococcus pseudopneumoniae* N = 19
Score: médiane: 2.36; min: 2.16; max: 2.49

Streptococcus pneumoniae = 9
Score: médiane: 2.30; min: 1.97; max: 2.47

Streptococcus mitis N = 1
Score: 2.09

2^e résultat: *Streptococcus pseudopneumoniae* N = 14
Score: médiane: 2.36; min: 2.16; max: 2.45

Streptococcus pneumoniae = 14
Score: médiane: 2.26; min: 1.95; max: 2.41

Streptococcus mitis N = 1
Score: 2.21

3^e résultat: *Streptococcus pseudopneumoniae* N = 17
Score: médiane: 2.35; min: 2.12; max: 2.45

Streptococcus pneumoniae = 10
Score: médiane: 2.27; min: 2.16; max: 2.35

Streptococcus mitis N = 2
Scores: 1.92, 2.06

Consistence with score: A: 13
B: 16

Tous les 29 laboratoires conseillent d'effectuer des tests complémentaires. Le résumé est repris dans le tableau ci-dessous.

Test	N labos
Optochine	11
Optochine + agglutination	3
Optochine + sels biliaires	8
Optochine + sels biliaires + ADH	1
Optochine + test dreft + PCR	1
Optochine + sels biliaires + catalase + morphologie + Gram	1
Sels biliaires	2
Vitek	1
PCR	1
Total	29

2) Les laboratoires qui répondraient en routine *Streptococcus pneumoniae* (N = 16)

1^e résultat: *Streptococcus pneumoniae* N = 15
Score: médiane: 2.26; min: 2.01; max: 2.55

Streptococcus pseudopneumoniae N = 1
Score: 2.33

2^e résultat: *Streptococcus pneumoniae* N = 14
Score: médiane: 2.21; min: 2.00; max: 2.48

Streptococcus pseudopneumoniae N = 2
Scores: 2.20, 2.22

3^e résultat: *Streptococcus pneumoniae* = 12
Score: médiane: 2.19; min: 1.99; max: 2.47

Streptococcus pseudopneumoniae N = 3
Score: 2.01, 2.19, 2.23, 2.28

Consistence with score: A: 11
B: 6

Tous les 16 laboratoires conseillent d'effectuer des tests complémentaires. Le résumé est repris dans le tableau ci-dessous.

Test	N labos
Optochine	2
Optochine + agglutination	2
Optochine + Vitek	1
Optochine + PCR	2
Optochine + envoi au CNR	1
Optochine + sels biliaires + Phoenix	1
Optochine + sels biliaires + Vitek	1
Optochine + sels biliaires + envoi au CNR	1
Optochine + agglutination + Phoenix + envoi au CNR	1
Test dreft	1
Agglutination	1
Antibiogramme	2
Total	16

3) Les laboratoires qui répondraient en routine *Streptococcus pseudopneumoniae* (N = 12)

1^e résultat: *Streptococcus pseudopneumoniae* N = 11
Score: médiane: 2.37; min: 2.21; max: 2.52

Streptococcus pneumoniae N = 1
Score: 2.32

2^e résultat: *Streptococcus pseudopneumoniae* N = 10
Score: médiane: 2.33; min: 2.12; max: 2.44

Streptococcus pneumoniae N = 2
Scores: 2.20, 2.30

3^e résultat: *Streptococcus pseudopneumoniae* N = 10
Score: médiane: 2.27; min: 2.20; max: 2.40

Streptococcus pneumoniae N = 2
Score: 2.07, 2.29

Consistence with score: A: 8
B: 4

Laboratoires qui conseillent d'effectuer des tests complémentaires: N = 11. Le résumé est repris dans le tableau ci-dessous.

Test	N labos
Optochine	2
Optochine + sels biliaires	4
Optochine + sels biliaires + agglutination	2
Optochine + agglutination + PCR	1
Agglutination	1
PCR	1
Total	11

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

1^e résultat: *Streptococcus pseudopneumoniae* score 2.32

2^e résultat: *Streptococcus pneumoniae* score 2.30

3^e résultat: *Streptococcus pseudopneumoniae* score 2.25

Consistence with score: B

Le laboratoire conseille les tests complémentaires suivants : optochine, sels biliaires et l'antibiogramme.

5) Les laboratoires qui répondraient en routine *Streptococcus* species (N = 6)

1^e résultat: *Streptococcus pneumoniae* N = 4
Scores: 2.04, 2.22, 2.38, 2.39

Streptococcus pseudopneumoniae N = 2
Scores: 2.29, 2.42

2^e résultat: *Streptococcus pneumoniae* N = 4
Scores: 2.16, 2.25, 2.33, 2.36

Streptococcus pseudopneumoniae N = 1
Score: 2.41

Streptococcus mitis N = 1
Score: 2.03

1^e résultat: *Streptococcus pneumoniae* N = 4
Scores: 2.08, 2.23, 2.33, 2.35

Streptococcus pseudopneumoniae N = 2
Scores: 2.15, 2.34

Consistence with score: A: 4
B: 2

Laboratoires qui conseillent d'effectuer des tests complémentaires: N = 5. Le résumé est repris dans le tableau ci-dessous.

Test	N labos
Optochine + sels biliaires	2
Optochine + test dreft + envoi au CNR	1
Optochine + encre de Chine + agglutination	1
Optochine + agglutination + test dreft + PCR	1
Total	5

Résultats techniques obtenus avec l'appareil de bioMérieux

1) Les laboratoires qui ne fourniraient pas de résultat en routine (N = 6)

Résultat: *Streptococcus pneumoniae* N = 2
Streptococcus pseudopneumoniae N = 2
Streptococcus mitis N = 1
Streptococcus species N = 1

Cinq laboratoires conseillent des tests complémentaires: trois laboratoires la détermination de l'optochine, un laboratoire la détermination de l'optochine + l'agglutination et un laboratoire la détermination de l'optochine + Vitek + PCR.

2) Les laboratoires qui répondraient en routine *Streptococcus pseudopneumoniae* (N = 16)

Résultat: *Streptococcus pseudopneumoniae* N = 15
Streptococcus pneumoniae N = 1

Laboratoires qui conseillent d'effectuer des tests complémentaires: N = 7. Le résumé est repris dans le tableau ci-dessous.

Test	N labos
Optochine	2
Optochine + agglutination	2
Optochine + sels biliaires	2
Envoi au CNR	1
Total	7

3) Les laboratoires qui répondraient en routine *Streptococcus pneumoniae* (N = 2)

Résultat: *Streptococcus pneumoniae* N = 2

Un laboratoire conseille comme test complémentaire l'agglutination.

Commentaire M/16601 *Streptococcus pseudopneumoniae*

Cette souche n'est pas un *Streptococcus pneumoniae*, même si elle est souvent identifiée comme *S. pneumoniae* par MALDI-TOF MS. Pour distinguer ce streptocoque viridans de *Streptococcus pneumoniae* les laboratoires cliniques peuvent en routine, en plus de la recherche de la sensibilité à de l'optochine, effectuer le test de la solubilité de bile et/ou la *lytA* PCR. La souche envoyée dans l'EEQ n'était pas lysée par la bile et négative dans la *lytA* PCR effectuée dans le Centre Nationale de Référence. La réaction Quellung, effectuée avec les antisérums de SSI Diagnostica, était également négative, ce qui exclut que la souche

ait une capsule polysaccharidique de pneumocoque. En plus la morphologie des colonies n'était pas caractéristique d'un *Streptococcus pneumoniae*.

Beaucoup de laboratoires ont, à juste titre, indiqué effectuer la recherche de la sensibilité à l'optochine pour contrôler le résultat du MALDI-TOF MS. Les résultats de ce test d'optochine variaient entre les différents laboratoires. Ceci est probablement dû à l'utilisation de différentes températures d'incubation. En général les pneumocoques sont sensibles à l'optochine aussi bien sous incubation en atmosphère normale qu'en atmosphère avec 5% de CO₂. Les streptocoques viridans sont d'habitude résistants à l'optochine. Les souches de *Streptococcus pseudopneumoniae* par contre sont souvent testées comme sensibles à l'optochine en incubation sous atmosphère normale et intermédiaires/résistantes à l'optochine en incubation sous atmosphère avec 5% de CO₂. Par défaut un test d'optochine est incubé sous une atmosphère avec 5% de CO₂, qui permet de distinguer simplement la plupart des *S. pseudopneumoniae* des *S. pneumoniae*. Le *S. pseudopneumoniae* envoyé dans l'EEQ est une exception étant donné qu'il a également été détecté comme sensible sous incubation avec 5% CO₂.

La distinction entre *Streptococcus pneumoniae* et les autres streptocoques du groupe *Streptococcus mitis* moins virulents reste donc difficile notamment pour *Streptococcus pseudopneumoniae* qui est une espèce génétiquement très apparentée au *Streptococcus pneumoniae*. En ce moment il n'existe aucun test phénotypique ou génotypique qui peut distinguer à 100% les pneumocoques de toutes les espèces du groupe *Streptococcus mitis*. Il en est de même pour la distinction entre *Streptococcus pseudopneumoniae* et *S. pneumoniae*. Ceci complique la recherche de la pertinence clinique de l'isolement d'une souche de *Streptococcus pseudopneumoniae* dans des échantillons respiratoires. Cette espèce est associée au BPCO et aux exacerbations de BPCO et elle est retrouvée chez des patients qui souffrent de mucoviscidose, mais des recherches approfondies sont nécessaires pour indiquer le rôle de *S. pseudopneumoniae* dans les infections des voies respiratoires.

S Desmet, UZ Gasthuisberg

M/16603 *Bacillus cereus*

Nombre de participants : 89

Bruker: N = 65

Logiciel: IVD: 38
RUO: 16
IVD + RUO: 2
IVD + bioterrorisme: 2
IVD + RUO + bioterrorisme: 1
RUO + bioterrorisme: 2
RUO + bioterrorisme+ moisissures: 1
RUO + bioterrorisme+ moisissures + mycobactéries: 2
RUO + bioterrorisme + moisissures + mycobactéries + propre base: 1

Extraction: Sans: 50
Acide formique: 14
Complète : 1

bioMérieux N = 24

Logiciel: IVD: 23
Myla: 1

Extraction: Sans: 24

Résultat final (répondu en routine)

Bruker

Pas répondu en routine: N = 3

Répondu en routine: N = 62

Réponses fournies:

Réponse	N labos
<i>Bacillus cereus</i>	50
<i>Bacillus species</i>	9
<i>Candida parapsilosis</i>	3
Total	62

Les trois laboratoires qui ont répondu *C. parapsilosis* ont probablement inversé les échantillons M/16581 et M/16603 (cfr. Supra).

bioMérieux

Pas répondu en routine: N = 1

Répondu en routine: N = 23

Réponses fournies:

Réponse	N labos
<i>Bacillus cereus</i>	21
<i>Bacillus species</i>	2
Total	23

Résultats techniques obtenus avec l'appareil de Bruker

1) Les laboratoires qui ne fourniraient pas de résultat en routine (N = 3)

1^e résultat: *Bacillus cereus* N = 2
Scores: 1.95, 2.19
Bacillus anthracis N = 1
Score: 2.25

2^e résultat: *Bacillus cereus* N = 2
Scores: 1.92, 2.13
Bacillus anthracis N = 1
Score: 2.21

3^e résultat: *Bacillus cereus* N = 2
Scores: 1.90, 2.09
Bacillus anthracis N = 1
Score: 2.19

Consistence with score: A: 2
B: 1

Un laboratoire conseille de contrôler la mobilité et l'hémolyse (il s'agit du laboratoire qui a obtenu le résultat *B. anthracis*); un autre laboratoire conseille d'envoyer l'échantillon au CNR

2) Les laboratoires qui répondraient en routine *Bacillus cereus* (N = 50)

1^e résultat: *Bacillus cereus* N = 50
Score: médiane: 2.34; min: 2.01; max: 2.54

2^e résultat: *Bacillus cereus* N = 50
Score: médiane: 2.18; min: 1.92; max: 2.45

3^e résultat: *Bacillus cereus* N = 47
Score: médiane: 2.09; min: 1.79; max: 2.40

Bacillus anthracis N = 1
Score: 2.15

Bacillus mycooides N = 1
Score: 2.09

Bacillus weihenstephanensis N = 1
Score: 1.93

Consistence with score: A: 48
B: 2

Laboratoires qui conseillent d'effectuer des tests complémentaires: N = 10. Le résumé est repris dans le tableau ci-dessous.

Test	N labos
Antibiogramme	3
Hémolyse + mobilité	2
Hémolyse	2
Mobilité	1
Microscopie	1
PCR	1
Total	10

3) Les laboratoires qui répondraient en routine *Bacillus* species (N = 9)

1^e résultat: *Bacillus cereus* N = 9
Scores: 2.33 2.04 2.48

2^e résultat: *Bacillus cereus* N = 9
Scores: 2.18 2.02 2.33

3^e résultat: *Bacillus cereus* N = 9
Scores: 2.07 1.98 2.17

Consistence with score: A: 7
B: 2

Tous les 9 laboratoires conseillent d'effectuer des tests complémentaires. Le résumé est repris dans le tableau ci-dessous.

Test	N labos
Hémolyse + sensibilité à la pénicilline	2
Hémolyse + mobilité	1
Hémolyse + envoi au CNR	1
Hémolyse	1
Phoenix	1
Séquençage 16 S	1
Envoi au CNR	2
Total	9

Résultats techniques obtenus avec l'appareil de bioMérieux

- 1) Le laboratoire qui ne fournirait pas de résultat en routine

Résultat: *Bacillus cereus* N = 1

Ce laboratoire contrôlerait la mobilité comme test complémentaire.

- 2) Les laboratoires qui répondraient en routine *Bacillus cereus* (N = 21)

Résultat: *Bacillus cereus* N = 21

Aucun laboratoire ne conseille de tests complémentaires.

- 3) Les laboratoires qui répondraient en routine *Bacillus species* (N = 2)

Résultat: *Bacillus cereus* N = 2

Un laboratoire contrôlerait la mobilité comme test complémentaire.

Commentaire M/16603 *Bacillus cereus*

L'identification de cette souche n'a posé aucun problème, quel que soit l'appareil utilisé.

FIN

© Sciensano, Bruxelles 2020.

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