

# Evaluation du VITEK® MS

Systeme de Spectrométrie de Masse MALDI-TOF  
pour l'identification des bactéries (et champignons)

# Conflit d'intérêt

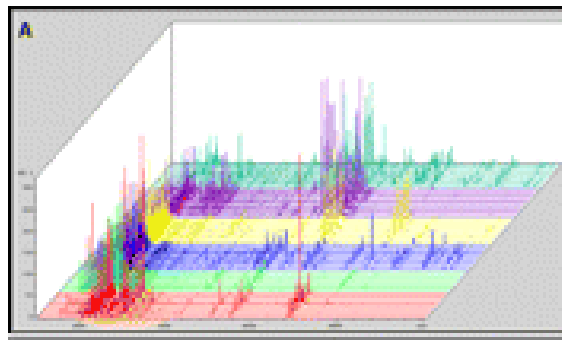


# Spectrométrie de masse MALDI-TOF

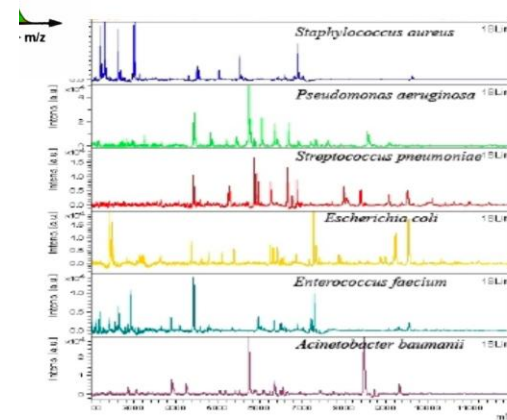
## Méthode



Dépôt d'une colonie  
et de la matrice



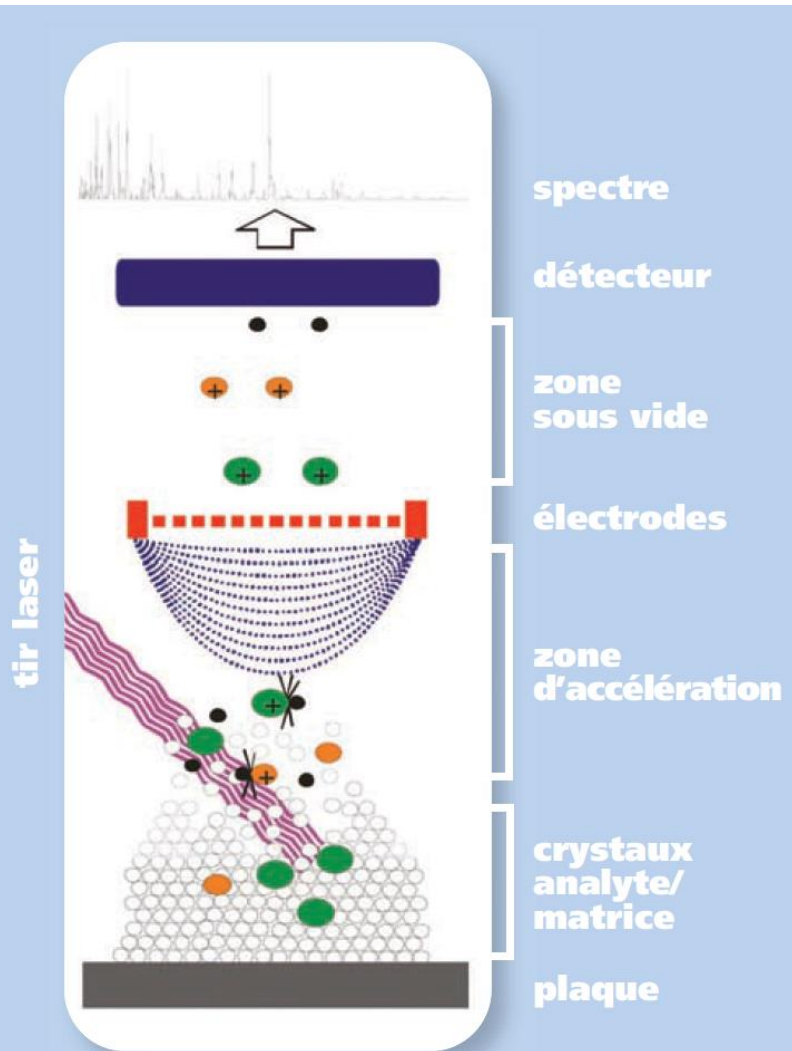
Comparaison à la  
base de données spectrale



Génération d'un spectre :  
liste de pics = masses et intensités  
de protéines

# Spectrométrie de masse MALDI-TOF

## Avantages



### ➤ Simple

- Pas de test préalable (Gram, ...)
- Pas d'inoculum nécessaire

### ➤ Rapide

- Résultats en quelques minutes

### ➤ Universel

- Bactéries cliniques, vétérinaires et environnementales
- Champignons (levures, filamenteux)

### ➤ Fiable

- Analyse moléculaire
- ID des sous-espèces

### ➤ Economique

- Coût du test : quelques centimes

# VITEK MS v1.0






- **Base de données MS-ID => 586 espèces**
  - 508 bactériennes et 78 fongiques

- **Algorithme ASC (Advanced Spectra Classifier)**
  - présence et absence de pics spécifiques, pondérées

- **Rendu / Interprétation des résultats**



Niveau de confiance	Nombre espèces proposées	% probabilité	
Bon 	1	60-99,9	
Faible discrimination 	2-4	>60	Test complémentaires
Absence d'ID 	NA	NA	Absence de spectre correspondant dans la base

+ messages « spectres de mauvaise qualité »

# Evaluation des performances du VITEK MS v1.0

Essai clinique prospectif européen multi-centrique  
=> **demande de marquage CE-IVD**

- colonies de **bactéries** (levures et filamenteux)
- géloses au sang & chocolat, incubation de 18 à 72h
- en microbiologie clinique (différents services et prélèvements)
- en terme de % d'identifications (ID) correctes  
= proposition de l'ID correcte = faibles discriminations incluses

# Méthodes



VITEK MS VITEK 2

Cartes GN, GP, ANC, NH et YST  
=> espèces revendiquées

Aucun pré-traitement



1 dépôt par isolat

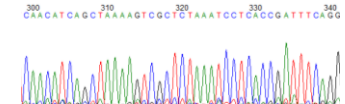


1µl matrice HCCA

Séchage /  
Cristallisation



Moléculaires



⇒ espèces non revendiquées par Vitek2  
⇒ discordances, no ID, faible discri. Vitek2

Séquençage

- 16S RNA
- *sodA* (*Staph.* et *Strepto./Enterocoques.*)

# Résultats globaux

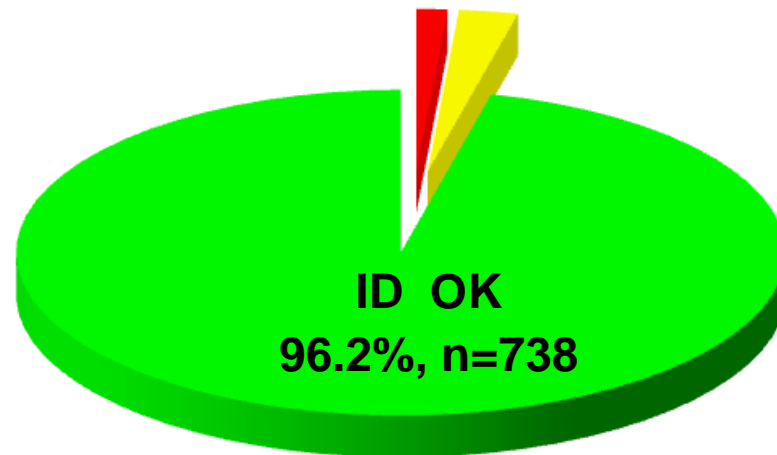
50 genres  
124 espèces  
767 isolats

ID incorrectes

1.3%, n=10

No ID

2.5%, =19





# Absence d'ID n=19, 2.5%

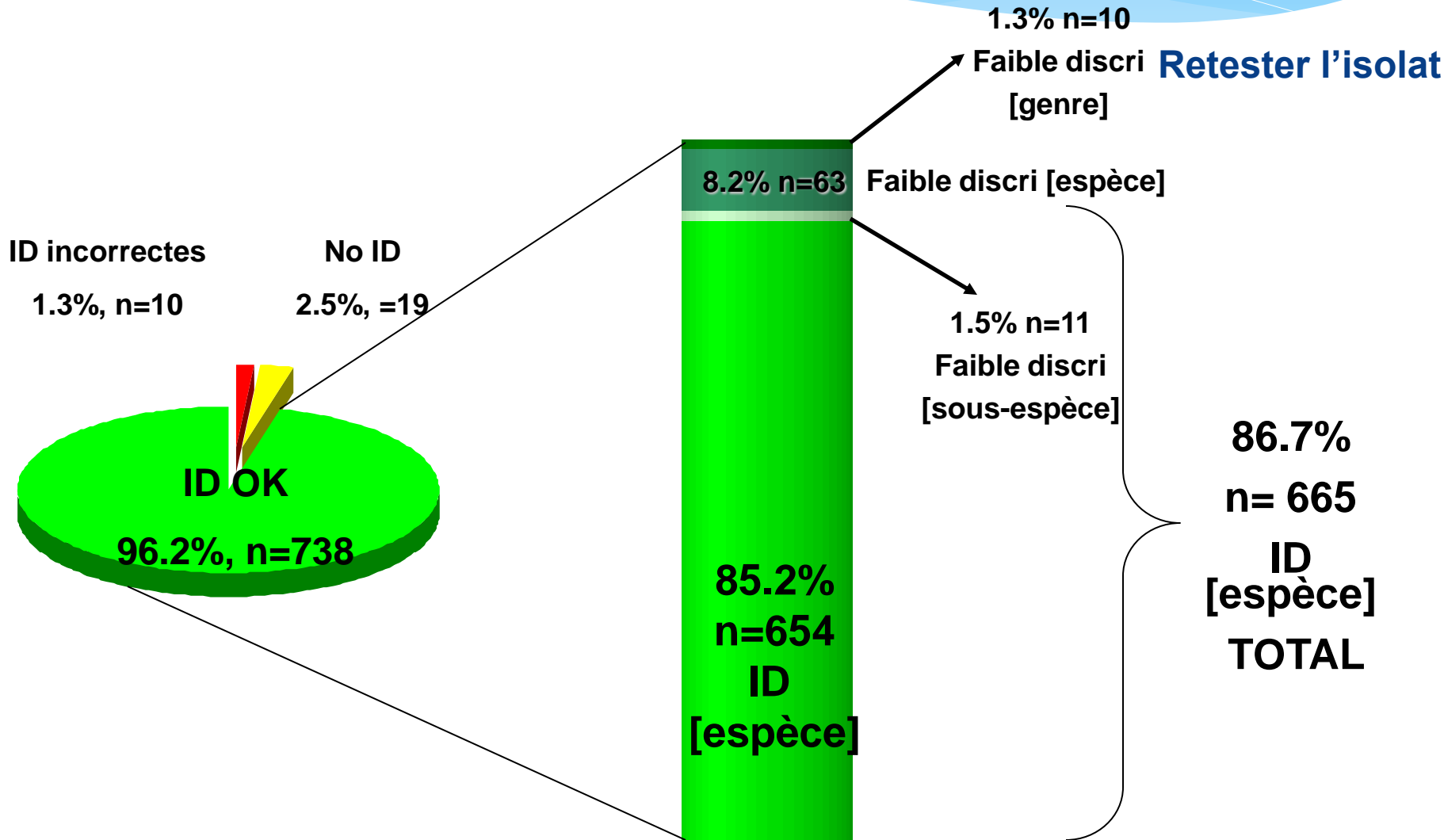
Espèces absentes  
de la base de données

ID reference	Retest result*	ID reference	Retest result*
<i>Staphylococcus aureus</i>	OK	<i>Acinetobacter sp</i> <sup>1</sup>	No ID
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	No ID	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	No ID
<i>Enterococcus faecium</i>	OK	<i>Staphylococcus condimentii</i>	No ID
<i>Enterobacter cloacae</i>	OK	<i>Corynebacterium</i>	No ID
	( <i>E. cloacae/asburiae</i> )	<i>fastidiosum/segmentosum</i>	No ID
<i>Proteus mirabilis</i>	OK	<i>Corynebacterium macginley</i>	No ID
<i>Alcaligenes faecalis</i>	OK	<i>Clostridium celerecrescens</i>	No ID
<i>Haemophilus influenzae</i>	OK	<i>Prevotella nanceiensis</i>	No ID
<i>Helicobacter pylori</i>	No ID	<i>Prevotella nigrescens</i>	No ID
<i>Helicobacter pylori</i>	No ID	<i>Anaerococcus hydrogenalis</i>	No ID
<i>Helicobacter pylori</i>	No ID		

\* résultat d'un second dépôt

<sup>1</sup>*Acinetobacter* sans nom d'espèce dans les banques de données génomiques

# Bonne ID et faibles discriminations



# ID incorrectes n=10, 1.3%

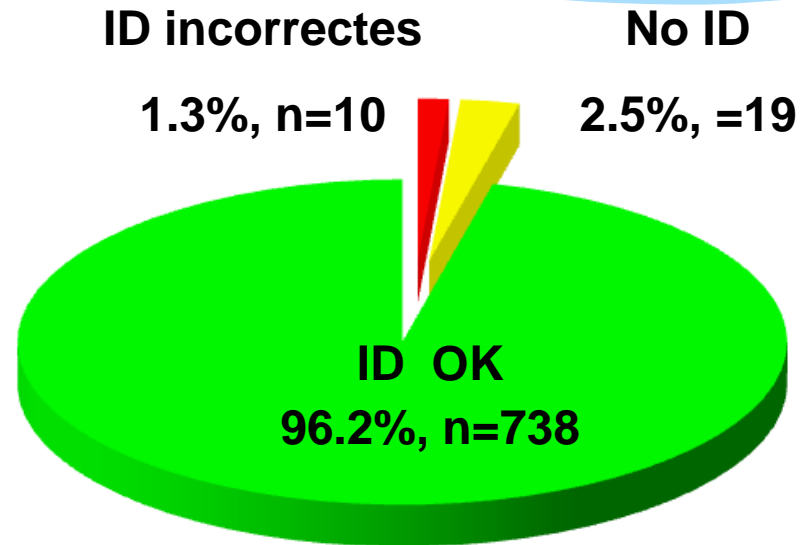
ID reference	Choix 1	Choix 2	Choix 3	Retest
<b><i>Shigella flexneri</i></b>	<i>Escherichia coli</i> (99.9)			<i>E. coli</i>
<b><i>Shigella flexneri</i></b>	<i>Escherichia coli</i> (99.9)			<i>E. coli</i>
<b><i>Aggregatibacter segnis</i></b>	<i>Haemophilus influenzae</i> (99.4)			OK
<b><i>Campylobacter jejuni</i></b>	<i>Citrobacter braakii</i> (84.4)			OK
<b><i>Neisseria mucosa</i></b>	<i>Neisseria subflava</i> (99.9)			<i>N. subflava</i>
<b><i>Lactobacillus rhamnosus</i></b>	<i>Propionibacterium avidum</i> (99.3)			OK
<b><i>Streptococcus australis</i></b>	<i>Str.parasanguinis</i> (99.9)			<i>S. parasanguinis</i>
<b><i>Haemophilus parainfluenzae</i></b>	<i>Haemophilus haemolyticus</i> (98.8)	<i>E. aerogenes</i> (93.5)	.	OK
<b><i>Ralstonia pickettii</i></b>	<i>Prevot. melaninogenica</i> (99.9)	<i>St. saprophyticus</i> (99.9)	<i>Chryseob. gleum</i> (96.2)	OK
<b><i>Streptococcus canis</i></b>	<i>Str. dys. dysgalactiae</i> (99.9)	<i>Str. dys. equisimilis</i> (99.9)	<i>Str. equi equi</i> (99.9)	No ID

Espèces absentes  
de la base de données

(%, valeurs de confiance)

# Résultats globaux

50 genres  
124 espèces  
767 isolats



Bonne ID

VITEK MS

Etudes antérieures  
Autres systèmes MALDI-TOF

[genre]  
[espèce]

95,2 %\*  
86,5%

87 - 98,8 %  
72,9 - 95,2 %

\* LD [genre] exclus

# Résultats par groupe bactérien

Number of			Organism group	% Overall	Good ID			No ID	Discrepancies Single choice or low discrimination
genera	species	isolates			At the species level*	At the genus level**	LD at the genus level		
2	20	127	<i>Staphylococcus</i> and related	96,9	116	3	4	4	
3	17	111	<i>Streptococcus</i> and related	98,2	105	4		2	
	6	66	<i>Enterococcus</i>	98,5	62	2	1	1	
13	25	281	<i>Enterobacteriaceae</i>	98,6	231	44	2	2	
12	20	94	Nonfermentative Gram negative rods	96,8	81	8	2	2	
	2	24	<i>Haemophilus</i>	91,7	21	1		1	
4	5	9	Other Gram negative rods	88,9	8			1	
	4	5	<i>Neisseria</i>	80	4			1	
	2	4	<i>Campylobacter</i>	75	3			1	
	3		<i>Helicobacter pylori</i>	0			3		
	2		<i>Legionella pneumophila</i>	100	2				
7	15	30	Anaerobes	86,7	25		1	4	
3	6	10	Aerobic Gram positive rods	70	4	3		2	

➤ Bonne ID des Gram +

➤ Bonne ID des *S. pneumoniae* (19) et autres *Strepto gp Mitis* (12)

# Conclusion

## Les Positifs

- Spécificité de l'algorithme : 'No ID'
- Un seul spot
- Bonne ID des Gram +

➤ **Différenciation pneumocoques et espèces proches ??**

## Les Négatifs

- Faible discrimination [genre]
- Mauvaise ID des *Shigella*
- Faible discrimination  
ex « *Enterobacter cloacae/asburiae* »
- Base de données à étoffer  
(Anaérobies, Corynéformes)  
*Cf versions ultérieures*

## 2<sup>ème</sup> évaluation

# ID de *S. pneumoniae* et des streptocoques alpha/non hémolytiques

### ➤ 334 *S. pneumoniae* (22 sérogroupes)

- 300 isolats de l'ORP Midi-Pyrénées 2009
- Origine clinique
  - 58% hémocultures
  - 17% OMA
  - 11% respiratoires
  - 8% LCR
  - 5% pleuraux

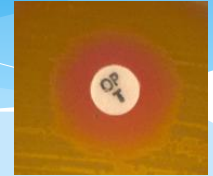
### ➤ 369 non-*S. pneumoniae* (isolés consécutivement)

- 45% autres gp Mitis
- 30% gp Anginosus
- 10,5% gp Salivarius
- 8,8% gp Bovis
- 0,5% gp Mutans
- 5,2% genres apparentés  
(*Abiotrophia*, *Granulicatella*,  
*Gemella*, *Aerococcus*,  
*Helcococcus*, *Facklamia*)



## ID SM MALDI-TOF

- 1 dépôt ± relecture
  - 2nd dépôt
    - (extraction + 1 dépôt)



## ID de référence

### **Pneumocoques**

Sensibilité optochine (CO<sub>2</sub>)  
+ solubilité bile *ou* sérotypage

### **Autres *Streptococci* et apparentés**

RapidID32 Strep  
± optochine (gp Mitis)

**Résultats discordants  
ou Faibles discriminations**



## ID de référence => séquençage

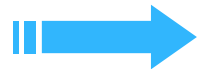
Pneumocoques et espèces proches	<i>recA</i>
Autres <i>Streptococci</i>	<i>sodA</i>
Genres apparentés	16S rDNA



ID *S. pneumoniae* (n=334)

Sensibilité 99.1%

Spécificité 100%



## Caractéristiques de 8 souches particulières

ID référence basée sur <i>recA</i>	ID VITEK MS	Sensibilité optochine CO <sub>2</sub> (O <sub>2</sub> )	Solubilité bile	Serotypage	PCR spécifiques <i>S. pneumoniae</i>			
					<i>psaA</i>	<i>MFP</i>	<i>ply</i>	<i>lytA</i>
<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. pneumoniae</i>	R (R)	Soluble	3	+	+	+	+
	<i>S. pneumoniae</i>	R (R)	Soluble	23F	-	+	+	-
	<i>S. mitis/oralis</i>	S (S)	Non Soluble	23	+	+	+	+
	<i>S. mitis/oralis</i>	S (S)	Non Soluble	37	-	-	+	+
	<i>S. mitis/oralis</i>	S (S)	Non Soluble	ND	-	-	+	+
<i>S. pseudopneumoniae</i>	<i>S. pseudopneumoniae</i>	R (S)	Non Soluble	non	-	ND	+	+
	<i>S. pseudopneumoniae</i>	R (S)	Non Soluble	ND	-	ND	+	+
	<i>S. pseudopneumoniae</i>	R (S)	Non Soluble	ND	-	ND	-	-

ND: non déterminé

22 isolats muqueux de *S. pneumoniae* :  
17 ID après 1 dépôt => 22 ID après extraction

## ID non *S. pneumoniae* (n=369)

8.1% ID correctes  
[groupe]

5.7% ID moléculaires  
non-concluantes [espèce]

5 gp Mitis  
9 gp Anginosus  
5 gp Bovis  
1 *Granulicatella* et 1 *Gemella*

2.4% ID incorrectes  
[espèce]

5 gp Mitis  
1 gp Anginosus  
3 gp Bovis

1.1% No ID  
<=> espèce absente  
de la base de données

*S. massiliensis*, *Aerococcus sanguinicola*,  
*Facklamia tabacinasalis*, *Facklamia ignava*

90.8%  
ID correctes  
[espèce/ss-espèce]

➤ **Bonne ID de *S. pneumoniae* et autres streptocoques 'viridans'**

- Performances similaires au test de sensibilité à l'optochine
- A partir de cultures pures (>1 colonie /dépôt)

➤ **Corroborée par 2 études Bruker** => colonies, AVEC extraction

- Analyse manuelle,  
7 pics déterminants => 6 profils de pics  
Différenciation de 14 *S. pneumoniae* / 13 *S. psp* / 10 *S. mitis* / 10 *S. oralis*

*Werno AM et al, J Clin Microbiol, 2012*

- 4 algorithmes différents  
3 pics déterminants  
Sensibilité et spécificité  $\approx$  100%, 25 *S. pneumoniae* / 34 *S. mitis* / 3 *S. oralis*

*Ikryannikova LN et al, Clin Microbiol Infect, 2012*

➤ **Confirmée par 2 études Vitek MS** =>colonies, SANS extraction, 1 dépôt

- 51 *S. pneumoniae* / 70 autres gp Mitis  
=> 2 *S. pneumoniae* non identifiés  
=> 5 *S. mitis/oralis*, 3 *S. sanguinis* : faibles discriminations ou non identifiés

*Rychert J et al, J Clin Microbiol, 2013*

- 95 *S. pneumoniae* / 116 autres gp Mitis (93 *S. mitis/oralis*, 3 *S. psp*)  
=> **1 *S. infantis* ? : *S. pneumoniae***  
=> 1 *S. pneumoniae* non identifié  
=> 7 non-*S. pneumo* : faibles discriminations

*Branda JA et al, J Clin Microbiol, 2013*

➤ **Bonne ID de *S. pneumoniae* et autres streptocoques 'viridans'**

⇒ **Algorithme ASC particulier ?**

⇒ **Nombre espèces dans la base de données : >300 pneumo**

# Remerciements

## **CHU Toulouse**

- \* **Bactériologie** - M Grare, MF Prère, C Segonds, E Oswald
- \* **Mycologie** - X Iriart, S Cassaing, A Berry

## **bioMérieux**

- \* **Affaires cliniques** - S Roux, C Gobet-Betoulle
- \* **R&D** - V Monnin, S Chatellier

**Biologistes de l'ORP Midi-Pyrénées 2009**