

# INTÉGRATION DU MALDI BIOTYPER DANS LA ROUTINE D'UN LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE CLINIQUE EN COMBINAISON AVEC LA DOCKING STATION DE BIOMÉRIEUX- VITEK

Cécile Meex

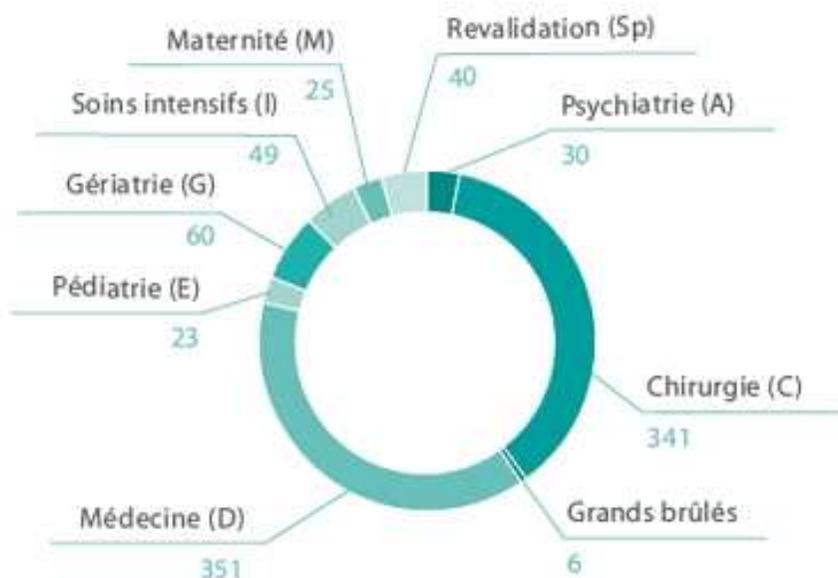
Microbiologie médicale

CHU Liège (Belgique)



# CHU Liège (CHULg)

- Hôpital universitaire multisite
- 925 lits agréés répartis sur 3 sites d'hospitalisation



- 6 sites de polycliniques : consultations

# CHULg: Site du Sart-Tilman

Centralisation des  
analyses de  
Microbiologie médicale  
sur le site principal

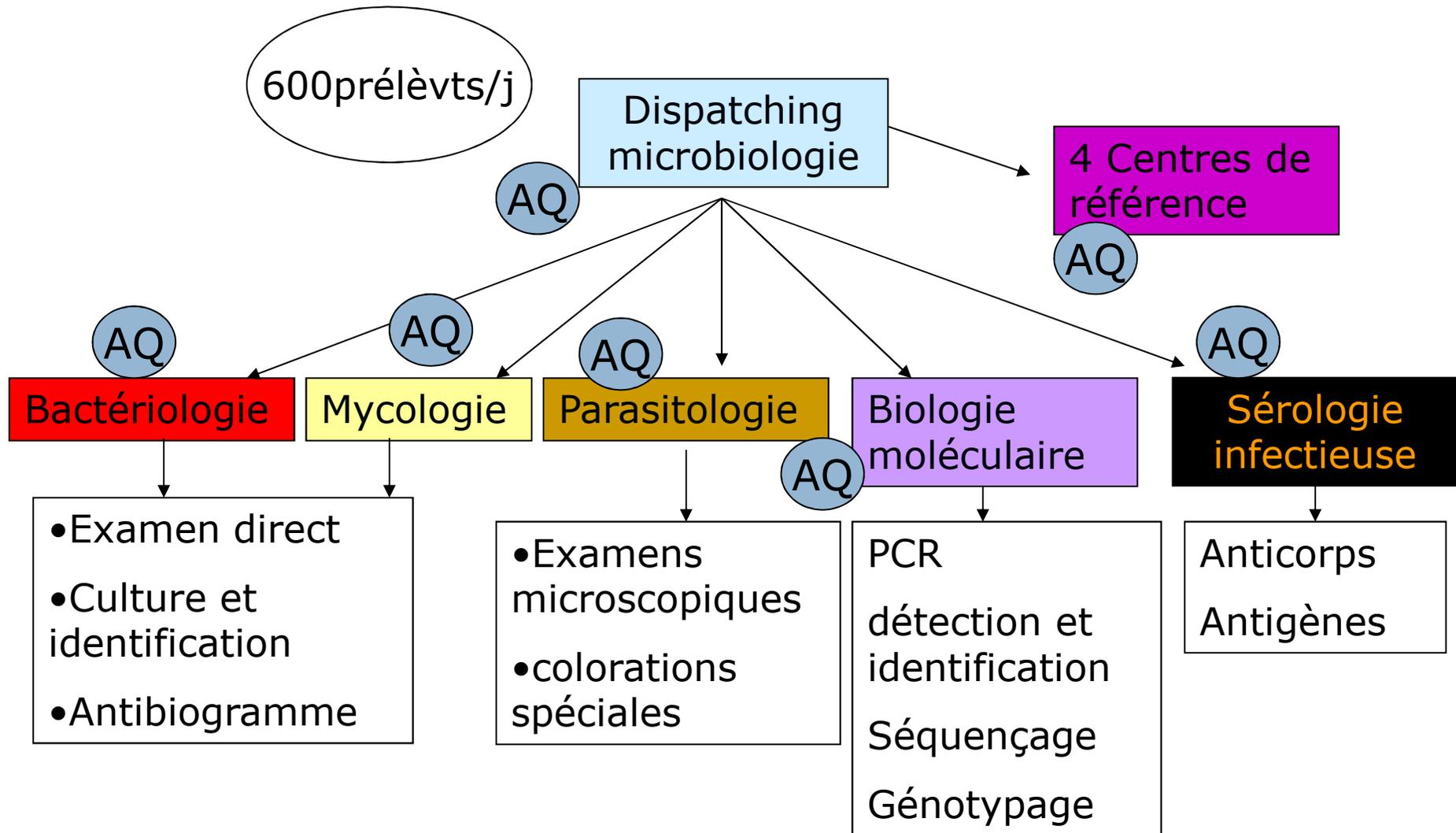


# Service de Microbiologie médicale : notre équipe



- Chef de service: Pierrette MELIN
- 3 Biologistes cliniques:
  - ▣ P. Huynen, C. Meex, MP Hayette
- 2 Scientifiques L.R.S.
- 2 Assistantes seniors
- Techniciens: 25 ETP
- Secrétaire

# Service de Microbiologie médicale: Différents secteurs



# CHULg: MALDI-TOF (1)

Mai 2009: Microflex<sup>®</sup>(Bruker)

1. **Evaluation de la base de données en parallèle des méthodes classiques pendant 2 mois**

## Algorithme décisionnel adapté:

MS Score  $\geq 2.3$ : **Identification excellente**

MS Score  $\geq 2.0$  et  $< 2.3$  et 3 premiers résultats identiques: **Bonne identification**

MS Score  $\geq 1.7$  et  $< 2.0$  et 3 premiers résultats identiques: **Identification acceptable**

# CHULg: MALDI-TOF (2)

## 418 microorganismes testés

	Nombre	En accord avec la méthode de référence
Identifications excellentes	90	100%
Bonnes identifications	190	100%
Identifications acceptables	42	100%
Identifications non concluantes	36	
Non identifiés	60	

- **Total: 322 identifications sur 418 soit 77%**
- **Pas de mauvaises identifications**

# CHULg: MALDI-TOF (3)

## 2. Evaluation par groupes bactériens

- Analyse en parallèle des méthodes classiques:
  - Des 30 espèces les plus fréquemment rencontrées
    - 10 à 20 souches par espèce
  - Des espèces plus rares lorsqu'elles étaient rencontrées

# CHULg: MALDI-TOF (4)

**3. Depuis juillet 2009:  
Identification bactérienne de  
première ligne:  
Microflex® MALDI-TOF MS  
(Bruker Daltonics)**

Sur base des scores  
d'appariement et de  
l'algorithme défini:

- ▣ Acceptation des identifications
- ▣ Méthode d'identification de seconde ligne si nécessaire: méthodes phénotypiques classiques



# CHULg: MALDI-TOF (5)

**Réévaluation: Février 2010 après 6 mois d'expérience en routine**

Groupe bactérien	Nombre de souches testées	Identifications acceptées selon l'algorithme (%)
Entérobactéries	541	98,7
Non fermentants	207	95,6
Staphylocoques	83	97,5
Streptocoques	110	89
<i>Haemophilus / Moraxella</i>	42	97,6
<i>Neisseria sp.</i>	4	100
<i>Campylobacter sp.</i>	5	100
Anaérobies	21	95,2
<b>TOTAL</b>	<b>1013</b>	<b>96,7</b>

# CHULg: MALDI-TOF

## Autres applications



### Levures

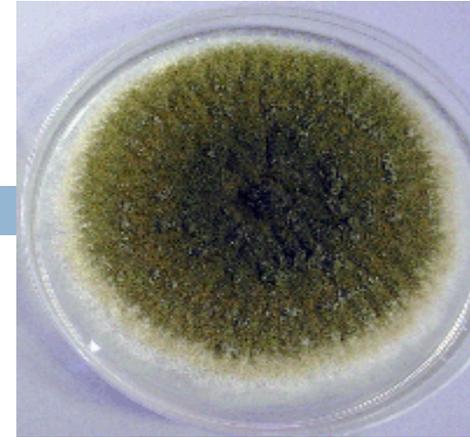
- Identification directe
    - ▣ mauvais résultats si on utilise l'algorithme choisi
  - Extraction liquide à l'acide formique
    - ▣ peu contributive et trop longue en routine
- **Extraction directe** à l'acide formique et double dépôt

### Algorithme adapté:

MS Score  $\geq 1.4$  et 3 premiers résultats identiques et aspect des colonies sur gélose cohérent avec l'identification: **Identification acceptable**

# CHULg: MALDI-TOF

## Autres applications



### Champignons filamenteux

- ▣ Participation au projet international Bruker « Filamentous fungi »
- ▣ Bases de données complémentaires:
  - 44 spectres de champignons filamenteux
  - 200 spectres d'environ 100 espèces : bientôt disponible pour les laboratoires participants
- ▣ Identification par dépôt direct + acide formique
- ▣ Bons résultats pour les *Aspergillus*

# CHULg: MALDI-TOF

## Autres applications

### Identification directe à partir des flacons d'hémocultures positifs (1)

**Mars-Avril 2011**

- ▣ 113 flacons d'hémoculture anaérobie BacT/Alert<sup>®</sup> (BioMérieux) sans charbon
  
- ▣ Différents protocoles d'extraction testés
  - MALDI Sepsityper<sup>®</sup> Kit (Bruker)
  - Lyse à la saponine (5%)



# CHULg: MALDI-TOF

## Autres applications



### Identification directe à partir des flacons d'hémocultures positifs (2)

#### **Critère décisionnel**

- Acceptation de l'identification si les 3 premiers résultats rendus sont identiques, quel que soit le score obtenu.

#### **Méthode de référence**

- Méthode conventionnelle : identification par MALDI-TOF après ensemencement et croissance sur gélose.

# CHULg: MALDI-TOF

## Autres applications

Identification directe à partir des flacons d'hémocultures positifs (3)

### Hémocultures monomicrobiennes (107)

	Pourcentage d'identifications directes		
	Sepsityper kit	Lyse à la saponine	
Gram négatif (40)	85%	93%	p = 0.4497
Gram positif (67)	58%	52%	p = 0.4227

### Hémocultures polymicrobiennes (6):

- ▣ 1 seul microorganisme identifié par technique directe

# CHULg: MALDI-TOF

## Autres applications

### Identification directe à partir des flacons d'hémocultures positifs (4)

- **Intégration dans la routine du laboratoire**
- **Enquête cliniciens: évaluation de l'impact d'une identification plus rapide sur l'antibiothérapie administrée**
  - ▣ **Patient non traité:** Administration d'un traitement adapté dans 86% des cas
  - ▣ **Patient déjà sous traitement:** Adaptation du traitement dans 33% des cas
  - ▣ **Nécessité de:**
    - Informer les médecins sur:
      - Les résistances naturelles des bactéries
      - l'existence de guidelines basées sur l'épidémiologie de notre hôpital
    - Cibler les services pour lesquels adopter cette technique

# Laboratoire de bactériologie: fonctionnement



- **Logiciel informatique de laboratoire: GLIMS**
  
- **4 postes de lecture « paperless »**
  - Urines/selles
  - Respiratoires
  - Hémocultures
  - Divers (liquides, biopsies, génitaux, matériels...)
  
- **Lectures et encodages en temps réel durant la matinée**

# Glims

13-111122-041601 - K0122210 URMJ 22/11/11

1993 K0122210 URMJ 22/11/11 Analyseur: MIC VITEK Non  
 Etat: Confirmé prov.

JR  Tout

**Isolements**

PI	Organisme	Eval.	Rp	Cf	Ab	Comm.	In	Comm.	Ex
1	A b-	PDMI	X	X	X	?		{<idenc>	

**Isolement Tests**

Is	Test	Date	Valeur
1	VITEK	23/11	?
1	MALDI	23/11	?

**1. b - Antibiogramme**

Antibiotiqu 1			
AM	?		
AMC	?		
ROXA	?		
ROX	?		
FOX	?		
TAX	?		
TAZ	?		
FEP	?		
TEM	?		
TZP	?		
MEM	?		
GM	?		
AN	?		
TOB	?		
NOR	?		
CIP	?		
FD	?		
FOS	?		
SXT	?		

**Résultats de l'échantillon**

Analyse	N	Eta	C	Valeur
LEUC		Cnf		{<B_M}
B-		Cnf		{<B_M}
LB		Cnf		{<B_M}
GRAM	X	?		?
GRAMNeg	X	?		?
SANG	X	?		?
CELL	X	?		?
B+	X	?		?
C+	X	?		?
C-	X	?		?
B+/-	X	?		?
LEV	X	?		?

Conclusion:

Révision:   
 Fin: 24/11/11

# MALDI-TOF

## Actuellement: 1 poste de dépôt

- ❑ 1 plaque lancée en début de matinée: hémocultures
- ❑ 2 plaques lancées en fin de matinée: les 3 autres postes
- ❑ 1 plaque en début d'après-midi: anaérobies, vérifications...
- ❑ 1 plaque en fin d'après-midi: réisolements, hémocultures de la journée...



## En moyenne

- ❑ ~ 700 dépôts MALDI par semaine
- ❑ ~ 350 identifications cliniquement significatives par semaine

# Logiciel « Docking station » (bioMérieux)

**Crée le lien entre :**

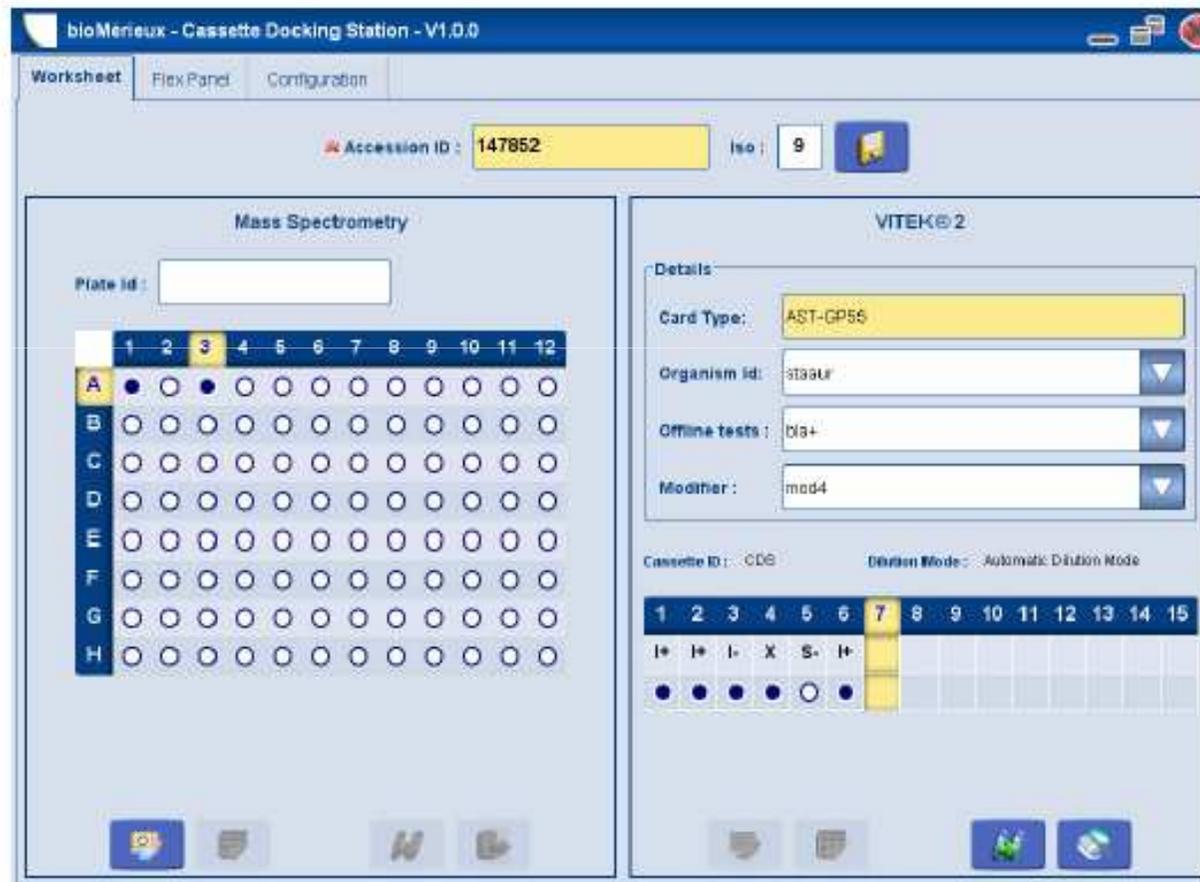


- les informations de l'échantillon
- les cartes AST
- les positions sur la plaque de  
de

→ **Transfert vers Vitek<sup>®</sup> 2 et PC MALDI-TOF**

# Logiciel « Docking station »

## Feuille de travail



Espace de travail « Spectrométrie de masse »

Espace de travail « Vitek 2 »

# Logiciel « Docking station » : Application au CHULg

- **Utilisation uniquement pour la création des plaques MALDI-TOF**
- **Pas d'utilisation de la fonction VITEK<sup>®</sup> 2 via la Docking station**
- **Préparation des antibiogrammes par les méthodes classiques (VITEK<sup>®</sup> 2 via Smartcarrier ou diffusion sur gélose) après **identification.****

# Transfert vers le MALDI Biotyper

- Fichier Excel généré trans par réseau informatique

	A	B	C	D	E	F
1	A1	1,3112E+13				
2	A2	1,3112E+13				
3	A3	1,3112E+13				
4						

- Importation dans le logiciel MALDI Biotyper

Identification MALDI Biotyper en temps réel - Projet: CM1\_2011112514\_5556

Fichier Affichage Outils Aide

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12

A B C D E F G H

○ Non occupé  
● Echantillon déposé  
● Interrompu  
● Mesuré  
● Pas de signal  
● Mesuré, classé en vert  
● Mesuré, classé en jaune  
● Mesuré, classé en rouge  
● Non identifié - pas de signal

Cachez détectées

ID	Position	Espèces détectées	Score	Commentaire	Validation
13112203540101	A1				Espèces du genre inconnu
13112202900102	A2				Espèces du genre inconnu
13112204160101	A3				Espèces du genre inconnu

# Exportation des résultats

- ❑ Réception de l'identification dans Glms (état relecture)
- ❑ Données brutes dans le champ « Commentaire interne

The screenshot displays a software interface for laboratory results. At the top, a blue header bar contains the text "13-111122-041601 - K0122210 URMJ" and the date "22/11/11". Below this, a search bar shows "K0122210 URMJ" and "22/11/11". A dropdown menu for "Analyseur" is set to "MIC VITEK", and the "Etat" is "Relecture".

The main window is titled "Isolements" and "Comm. In". It features a table with 10 rows of data, each representing an isolate. The first row is highlighted in green and contains the following information: "1", "esccol", "Escherichia coli", "++", "2.29510650087191". The other rows follow a similar pattern with varying MIC values.

Below the table, there is a section titled "Résultats" with a sub-section "Analyse". It lists various parameters such as LEUC, B-, LB, GRAM, GRAMNeg, SANG, CELL, B+, C+, C-, B+/-, and LEV, each with a corresponding "X ?" or "X ? ?" status.

At the bottom of the window, there is a "Conclusion:" field and a "Révision:" field.

# Validation de l'identification (1)

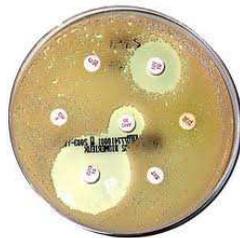
- **Confirmation de l'ID par les techniciennes**
  - **Sur base des propositions et scores obtenus.**
  - **Vérification de la morphologie des colonies (cohérence avec l'identification).**



- **Validation par le biologiste.**

# Validation de l'identification (2)

- **Bactérie à renseigner?**
- **Antibiogramme à réaliser?**
- **Choix de l'antibiogramme à réaliser en fonction de l'identification obtenue.**
  - **VITEK® 2**
    - **Envoi des identifications à partir de Glims**
  - **Diffusion sur gélose**



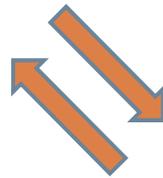
# Laboratoire de bactériologie: Connexions informatiques



MALDI Biotyper  
(Bruker)



Docking station  
(bioMérieux)



Glms



Vitek<sup>®</sup> 2 (bioMérieux)



Smart carrier station<sup>®</sup>  
(bioMérieux)

# Discussion (1)

## Docking station (bioMérieux)

### □ **Avantages:**

- **Création des projets MALDI au poste de travail**
  - Suppression d'étapes potentiellement à l'origine d'erreurs
- **Visualisation à l'écran de la plaque MALDI**
  - réduction du risque d'erreurs au dépôt
- **Possibilité de lancer un antibiogramme Vitek<sup>®</sup> simultanément**

### □ **Inconvénients**

- **Pas d'intervention de bioMérieux pour la configuration du logiciel MAIS aide précieuse de:**
  - Bruker
  - Notre informatique locale

# Discussion (2)

## Développements à envisager

- **Multiplier les postes de dépôt**
  - ▣ Prévoir le budget pour plusieurs Docking stations
  - ▣ Adapter les PC
- **Dépôt en même temps que la lecture**
  - ▣ Gain de temps?
  - ☹ Mélange d'activités
- **Dépôt en même temps que la suspension pour l'AB Vitek**
  - ▣ Sécurité (travail à partir de la même colonie)
  - ▣ Gain de temps?
  - ☹ Toutes les ID ne nécessitent pas un antibiogramme
  - ☹ Mélange d'activités

# Conclusions



- **MALDI Biotyper**
  - ▣ Indispensable pour nos identifications en routine
- **Docking station de bioMérieux**
  - ▣ Création des projets d'identification MALDI facilitée
  - ▣ Dans notre cas: avantages limités par rapport au MALDI-Trace<sup>®</sup> de Copan
- **Connexions informatiques :**
  - ▣ Simplification du travail
  - ▣ Assurance qualité