

MALDI voor MICRO
Juister? Sneller? Eenvoudiger?
Goedkoper?

Bilulu Symposium 2012

Guy Coppens



BILULUproject

- Groepsaankoop Bilulu maart 2011:
 - Microflex™ LT MALDI-TOF systeem
 - MALDIBiotyper software packet 2.0 en 3.0
 - Reference Library
 - IVD MALDIBiotyper 2.1 software package
 - On site basic + advanced training
 - Waarborg voor 5 jaar

- Bilulu validatiedossier



Bilulu Validatiedossier: Dropbox

- **Validatierapport MALDIBIOTYPER BILULU DEEL I ***
 - Ruwe data in:
 - Excellfile Maldi tof ruwe data: –"maldim"
 - Excellfile Referentiestammen overzicht
- **Validatierapport MALDIBIOTYPER BILULU DEEL II**
 - Vergelijking MALDI -16S
 - Ruwe data in:
 - Excellfile Vergelijking MALDI met 16S Biluluvalidatiedossier
 - Technische validatie in routine met MDT Bilulu
- **JYZ-VAL-MALDI Biotyper Verslag -2011.1**
 - Ruwe data in:
 - Excellfile JYZ-VAL-MALDIBIOTYPER data v2.0
- **MALDI_stageverslag_Bodems_IMZBonheiden_2011**

* Replacement of classical non-automated methods by Maldi-tof MS for routine identification of bacteria and yeasts
G. Coppens, K. Martens, G. De Sutter, J. Heyligen, E. Oris
ECCMID, Milan, 7-10 May 2011 P1829



Juister?

Validatierapport MALDIBIOTYPER BILULU DEEL I

Vergelijking 2 methodes **in klinische routine**

- Gedurende november - december 2009
- Representatieve stammen uit klinische monsters
- Prospectief
- Vergelijking geaccrediteerde klassieke identificatiemethode (KI)
- Met MALDI-TOF MS identificatie
- Aanvaardingscriteria MALDI: 1.7 – 1.89 voor GENUS; ≥ 1.9 voor SPECIES
- Aanvaardingscriterium nieuwe methode: per groep $\geq 90\%$ concordantie
(Verification and Validation of Procedures in the Clinical Microbiology Laboratory, Cumitech 31A, 2009, R. B. Clarck et al, ASM press)



Juister?

Validatierapport MALDIBIOTYPER BILULU DEEL I

Routine ZOL 2009	N	Concordantie	Concordantie % (species + genus)	Opmerkingen
Referentiestammen ATCC	50	47	94	
S. aureus	62	62	100	
CNS	119	115	97	
Streptokokken	61	53	87	Indien optochine: 98.3%
Enterokokken	75	74	99	
Enterobactereaceae	225	218	97	KR voor L- ESCO
Niet vergisters	136	128	94	
Grampositieve aërobe staven	15	15	100	
Anaëroben	19	18	95	Gerichte validatie nodig
Haemophilus, Moraxella Neisseria	26	24	92	
Haemophilus parainfluenzae	25	23	92	
Haemophilus influenzae	20	20	100	
Gisten	71	71	100	Eventueel na extractie
Schimmels				Nog te valideren
Totaal	904	868	96 %	



Juister?

JYZ-VAL-MALDI Biotyper Verslag -2011.1

Vergelijking 2 methodes **in klinische routine**

Routine JYZ (KI+ Vitek 2)	N	Concordantie N	Concordantie %	Opmerkingen
Referentiestammen ATCC	15	47	100 %	
Routinestammen	174	162	93.1 %	
Gisten uit routine	10	10	100 %	Indien > 1.7



Juister?

Validatierapport MALDIBIOTYPER BILULU DEEL I

REPRODUCEERBAARHEID (Bloedagar)

Score <u>value</u>	ESCO ATCC 25922	STAU ATCC 25923	PSAE ATCC 27853	ENFS ATCC 29212
RUN 1: n= 40				
Gemiddelde	2.422	2.181	2.339	2,023
Standaarddeviatie	0,064	0,152	0,095	0,325
RUN 2: n = 40				
Gemiddelde	2.395	2.359	2.369	2.390
Standaarddeviatie	0,046	0,057	0,052	0,059

Besluit:

- 100 % reproduceerbaar qua speciesidentificatie
- **Kwaliteit van koloniespot belangrijkste factor** voor bekomen van goede score value en goede reproduceerbaarheid.



Juister?

Accuraatheid: Vergelijking MALDI -16S rRNA sequencing

N =751 stammen, moeilijke identificatie met KI

Concordant		16S		
		SPECIES	GENUS	GEEN ID
MALDI	SPECIES	313 (41.7%)	206 (27.4%)	2
	GENUS	48 (6.4%)	48 (6.4%)	0
	GEEN ID	38 (5.1%)	39 (5.2%)	15 (2%)
Discordant	10 (1.3%)			
On hold	32 (4.2%)			



Juister?

Validatierapport MALDIBIOTYPER BILULU DEEL II

Technische validatie met behulp van validatiedossier

Veillonella... (13)	(vesp) of ...	16S indien klinisch relevant + validatiedossier			A2
Vibrio ... (73)	visp of ...	Oxidase + vergister (Vibrio cholerae niet in databank!) (1), 16S indien klinisch relevant + validatiedossier			B2
Wautersiella falsenii (2)	(wafa)	Vroeger Chryseobacterium of Empedobacter; <i>validatiedossier afgewerkt</i>			A6D1
Yersinia enterocolitica (11)	yeen	Te bevestigen in referentielaboratorium . <i>Validatiedossier afgewerkt.</i>	A1B1	A2D1	A4D1
Yokenella regensburgei (1)	(yore)	EBC(1), 16S indien klinisch relevant + validatiedossier			A1



Sneller?

ROUTINE

- Routine identificatie vanuit primaire plaat
(> 90% identificatie binnen de 24 uur)
- Rechtstreekse identificatie mogelijk vanuit urine
- Rechtstreekse identificatie mogelijk vanuit positieve hemocultuur

MOEILIJKE IDENTIFICATIES veel sneller dan met 16S

- Goed alternatief in 75% van de gevallen
- Resultaat binnen het uur (indien extractie nodig)

TYPERING STAMMEN veel sneller dan met andere moleculaire technieken

- Potential to discriminate major MRSA clonal complexes type MRSA lineages (Kevin Martens, 2011)



Eenvoudiger?

**Consolidatie identificatiemethode.
Alle kiemen in routine op dezelfde wijze geïdentificeerd.**

- Koppeling met LIS ?
- Past in verdere labautomatisatie ...
- Stockbeheer: eenvoudiger
- Gesofisticeerde techniek
 - eenvoud van uitvoering
 - blijvende aandacht goede techniek!



Eenvoudiger?

CAVE: vele factoren kunnen score value beïnvloeden!

- Toestel **instelwaarden** (laser, vacuum, ionenbron, hoogspanning, ...)
- Versie **datbank**
- Versie **software** MALDI Biotyper
- Kwaliteit van de **matrix** (productie, houdbaarheid, vortex, temperatuur)
- Kwaliteit van de **spot** op de target ("less is more")
- Onderhoud **target** (contaminatie)
- Aard **kweekbodem**: liefst niet selectieve ?
 - IMB:
 - McC geeft meer "no peaks found" voor ESCO en KLPN
 - McC gemiddeld hogere score values dan BA
 - Geen invloed van bodem op identificatie (idem ZOL, JYZ)
 - Anderson JCM 2011:
 - McC geeft lagere score value voor Pseudomonas species
 - CNA geeft lagere score values voor stafylokokken
- **Extractieprocedure**: geeft meestal hogere score values (IMB: niet voor GN)
- Microbiologische eigenschappen **stam** (leeftijd kolonie, sporenvorming anaëroben, celwand, ...)



Goedkoper?

Kostenraming per routine identificatie

Klassieke identificatie	MALDI
2, 96 euro	2.90 euro (2.42 euro)

- In geval van 3000 identificaties van klinische stammen per maand
- Prijs per test voor MALDI ifv aantal testen per maand

Kostenraming per moeilijke identificatie

16S rRNA Gene sequencing	MALDI
100 USD *	2.90 euro (2.42 euro)

* Bizzini, JCM, feb.2011, p. 693-696)



Goedkoper?

Invloed MALDI op werkingskosten door consolidatie:

- Minder kwaliteitscontroles (op verschillende testjes)
- Eenvoudiger stockbeheer reagentia
- Minder vervallen producten (moeilijke identificaties)



Besluit en to do's

-Juister? JA

- Vergelijking MALDI-16S verder af te werken
- Toepassingen typeringen verder ontwikkelen

-Sneller? JA

- Koppeling aan LIS
- Integratie in labautomatisatie

-Eenvoudiger? JA

- Verder consolideren
- BILULU back up

-Goedkoper?

- Kostenraming per laboratorium nodig

