



FICHE TYPE QUALITATIF
VERIFICATION (PORTEE FLEXIBLE A) D'UNE
METHODE DE BIOLOGIE MEDICALE

REFERENCE : SH FORM 44

INDICE DE REVISION : 00

DATE D'APPLICATION : 15/04/11

IDENTIFICATION DE LEVURES PAR MALDI TOF
(Procédure dégradée TEST AGGLUTINATION/GALERIE/RAT)

DESCRIPTION DE LA METHODE

Analyte / Mesurande :	Identification des levures
Principe de la Mesure :	MALDI-TOF : Obtention d'une empreinte spectrale qui est comparée à une banque de données Test BLCA : Test d'agglutination rapide pour <i>Candida albicans</i> à partir de particules de latex sensibilisées avec un anticorps monoclonal. Test AUXACOLOR : Identification de levures sur galerie basée sur l'assimilation des sucres RAT : (Riz Agar Tween) mise en évidence de pseudo filament.
Méthode de mesure :	Méthodes manuelles (Test BLCA, Test AUXACOLOR, RAT) automatisées (Spectrométrie de masse de type MALDI-TOF)
Marquage CE (Oui/Non)	OUI

MISE EN OEUVRE

Opérateurs (Habilitation) :	Technicien(ne)s Secteur Mycologie Biologiste du secteur
Procédure de validation :	LABO/GEN/GU/001
Procédure de gestion de la portée flexible :	LABO/GEN/PR/006
Période d'évaluation :	De janvier 2013 à août 2013
Date de mise en service :	Juin 2014
Autorisation par :	M.GARI-TOUSSAINT



FICHE TYPE QUALITATIF

VERIFICATION (PORTEE FLEXIBLE A) D'UNE METHODE DE BIOLOGIE MEDICALE

REFERENCE : SH FORM 44

INDICE DE REVISION : 00

DATE D'APPLICATION : 15/04/11

MAITRISE DES RISQUES

analyse des risques en mycologie LABO- PAR-FI-067

Données d'entrée	Points critiques à maîtriser	Modalités de maîtrise
Type d'échantillon primaire	Culture pure	
Prétraitement de l'échantillon	MALDI TOF : extraction longue TEST AGGLUTINATION : aucun GALERIE IDENTIFICATION : aucun RAT : aucun	MO identification des levures et filamenteux par MALDI-TOF extraction longue LABO-PAR-MO-029 MO identification des levures méthode dégradée LABO-PAR-MO-002
Main d'œuvre (habilitation du personnel)	Habilitation du personnel	Fiche d'habilitation mycologie dermatophytes, environnement LABO/PAR/FH/001 Fiche d'habilitation mycologie routine LABO/PAR/FH/002 Fiche de tutorat LABO-PAR-FI-059
Conditions ambiantes requises	MALDI TOF : Atmosphère refroidie (15 à 25C°)	Vérification quotidienne
Références des réactifs	<u>MALDI TOF</u> <u>Matrice</u> : IVD matrix réf 290200 (CE) <u>BTS</u> : IVD bacterial test standard ref 290190 (CE) <u>Acide formique</u> : formic acid réf 33015 Sigma Aldrich <u>Acétonitrile</u> : ref 34851 Sigma Aldrich <u>Ethanol absolu</u> : ref 20821.310 VWR <u>Eau distillée stérile</u> : selon marché <u>TEST AGGLUTINATION</u> - Test BLCA ref:FUM5249 biomérieux CE <u>GALERIE D'IDENTIFICATION</u> - Test AUXACOLOR ref 56513 bio rad -milieu RAT (fabrication interne)	Respect des conditions de conservation Vérification des références et des dates de péremption et lots pour les réactifs achetés → gestion des stocks (gestock) LABO/PAR/PR/010 → test acceptation des lots : tests et contrôle qualité en mycologie LABO/PAR/FI/023
Matériel de références	Souche ATCC Ckru 6258 Souche ATCC Calb 90028	MALDI TOF :CQi (Ckru) pour chaque série AGGLUTINATION /GALERIE IDENTIFICATION /RAT : validation de chaque nouveau lot (Calb)
Equipements	Etuves	Relevé journalier des températures sondes sirius Cartographie tous les 5ans LABO-GEN-DS-050 (planning des cartographies)



FICHE TYPE QUALITATIF

VERIFICATION (PORTEE FLEXIBLE A) D'UNE
METHODE DE BIOLOGIE MEDICALE

REFERENCE : SH FORM 44

INDICE DE REVISION : 00

DATE D'APPLICATION : 15/04/11

MAITRISE DES RISQUES

analyse des risques en mycologie LABO- PAR-FI-067

Données d'entrée	Points critiques à maîtriser	Modalités de maîtrise
		Fiches de vie matériel LABO/GEN/DS/016 Nettoyage et désinfection des surfaces Hygiène et Bionettoyage LABO-PAR-FI-035 Suivi des tableaux métrologie : LABO-GEN-DS-013 (planning de maintenance et de métrologie du matériel) LABO-GEN-DS-012 (tableau de périodicité métrologique)
	Hotte chimique	Contrôle tous les 6 mois du flux Fiche d'utilisation LABO-PAR-FI-040 fiche de vie du matériel LABO-GEN-DS-016 Suivi des tableaux métrologie : LABO-GEN-DS-013 (planning de maintenance et de métrologie du matériel) LABO-GEN-DS-012 (tableau de périodicité métrologique) Nettoyage et désinfection des surfaces Hygiène et Bionettoyage LABO-PAR-FI-035
	Réfrigérateurs Congélateurs	Relevé journalier des températures/ sondes sirius Cartographie tous les 5 ans LABO-GEN-DS-050 (planning des cartographies) Fiches vie du matériel LABO/GEN/DS/016
	Centrifugeuses	Fiche vie du matériel LABO/GEN/DS/016 Fiche d'utilisation LABO/PAR/FI/038 Suivi des tableaux métrologie : LABO-GEN-DS-013 (planning de maintenance et de métrologie du matériel) LABO-GEN-DS-012 (tableau de périodicité métrologique)
	MALDI-TOF	Maintenance annuelle/ maintenance préventive Fiche vie du matériel LABO/GEN/DS/016
	Pipettes	Suivi des tableaux métrologie : LABO-GEN-DS-013 (planning de maintenance et de métrologie du matériel)



FICHE TYPE QUALITATIF

VERIFICATION (PORTEE FLEXIBLE A) D'UNE METHODE DE BIOLOGIE MEDICALE

REFERENCE : SH FORM 44

INDICE DE REVISION : 00

DATE D'APPLICATION : 15/04/11

MAITRISE DES RISQUES

analyse des risques en mycologie LABO- PAR-FI-067

Données d'entrée	Points critiques à maîtriser	Modalités de maîtrise
		LABO-GEN-DS-012 (tableau de périodicité métrologique) Vérification annuelle Fiche d'utilisation LABO/PAR/FI/043 Fiches vie du matériel LABO/GEN/DS/016
Informatique	Sirweb Maldi biotyper Flex control	Système informatique du CHU Société Brucker Pas d'équipement critique pour le MALDI-TOF

EVALUATION DES PERFORMANCES DE LA METHODE

1) Système Bruker MALDI-TOF

La spectrométrie de masse de type MALDI-TOF est une technique utilisée pour l'identification des micro-organismes. Equipé d'un MALDI-TOF, nous réalisons toutes les identifications de levures par cette technique.

- Critères d'interprétation du laboratoire/décision interne :

- Au moins 1 spot >2 : identification d'espèce valide
- 2 spots entre 1,7 et 2 **ET** pour chaque spot 3 propositions identiques successives : identification valide
- Pas de pic détecté sur 1 spot + score <2 sur le 2^e spot, refaire la manip à partir du même surnageant. (sans refaire l'extraction longue confère annexe n°2 test de conservation du surnageant d'extraction)
- pas de pic détecté sur les 2 spots : refaire l'extraction à partir de la souche
- Conditions ci-dessus non remplies ou 2^e échec : faire la procédure dégradée identification des levures.

Le test d'agglutination (BLCA) et la méthode AUXACOLOR + RAT sont également utilisés en procédure dégradée en cas de panne du MALDI-TOF.

Sur un total de 60 souches analysées, une concordance de genre et d'espèce entre MALDI-TOF et identification conventionnelle (auxacolor, ID32C, Blca, Blck, Rtt) a été observée pour 52 souches (Cf Annexe n°1). Ces résultats ont permis de choisir auxacolor et BLCA comme procédure dégradée.

Les souches CQI utilisées au laboratoire ont été également testées :

- CQ *Candida albicans* 3153A
- ATCC *Candida krusei* 6258;
- ATCC *Candida parapsilosis* 22019 ;
- CQ *Candida albicans* 10231 ;
- ATCC *Candida albicans* 90028.

Une concordance entre MALDI-TOF et identification conventionnelle (auxacolor, Blca, Blck, Rtt) a été observée pour toutes souches CQI (100%)



FICHE TYPE QUALITATIF

VERIFICATION (PORTEE FLEXIBLE A) D'UNE METHODE DE BIOLOGIE MEDICALE

REFERENCE : SH FORM 44

INDICE DE REVISION : 00

DATE D'APPLICATION : 15/04/11

2) Test BLCA (référence 5249 Biomérieux CE)

Performances (données fournisseurs) :

Le réactif BICHRO LATEX ALBICANS FUMOUCHE est constitué de particules de latex sensibilisées par l'anticorps monoclonal provenant du clone « LIB-3H8 » développé par la section départemental micro1 de la faculté de pharmacie de l'université de valence en collaboration avec les Iboratorio integrado de bioingeneria (LIB) of universitat politecnica de valencia, Espagne. Cet anticorps monoclonal assure sensibilité et spécificité à la réaction. Dans tous les cas, il est nécessaire d'intégrer l'ensemble des données cliniques, épidémiologiques et biologiques avant d'établir les diagnostics finals.

1. sensibilité par rapport au test de blastese

Protocole : 192 souches ou isolats *C.albicans* ou *C.dublinensis* ont été testés par BLCA et par test de Blastese (culture 24h à 37°C)

Résultats :

	Positif	%	Négatif	%
Test blastese	176	91.66	16	8.33
BLCA	192	100	0	
ID32C	192		0	

Conclusion : BLCA présente une meilleure sensibilité que les tests de blastese.

2. sensibilité / spécificité par rapport à l'identification ID32C

protocole : 2404 isolats de levures dont 1747 candida du groupe *C.albicans/C.dublinensis* et 657 levures autres que *C.albicans* et *C.dublinensis* ont été testés par BLCA APRES CULTURE SUR sabouraud à 37°C pendant 24h ou 48h. 3 ou 4 colonies ont été prélevées pour être testées par BLCA.

Résultats :

		Identification ID32C	
		<i>C.albicans</i> ou <i>C.dublinensis</i>	Levures non <i>C.albicans</i> et non <i>C.dublinensis</i>
BLCA	+	1744 (99.8%)	4
	-	3	653 (99.4%)

Conclusion : les résultats montrent
Une très bonne corrélation entre BLCA et l'identification ID32C
Une sensibilité et une spécificité supérieure à 99% du BLCA



FICHE TYPE QUALITATIF

VERIFICATION (PORTEE FLEXIBLE A) D'UNE METHODE DE BIOLOGIE MEDICALE

REFERENCE : SH FORM 44

INDICE DE REVISION : 00

DATE D'APPLICATION : 15/04/11

3) Test AUXACOLOR2 réf : 56513 bio-rad

Performance du test (donnée fournisseur)

La galerie AUXACOLOR TM 2 permet d'identifier 31 espèces de levures et une espèce d'algue unicellulaire, *Prototheca wickerhamii*. Comparativement à AUXACOLOR TM, 7 nouvelles espèces de levures sont identifiées par cette galerie : *Candida ciferrii*, *Candida dubliniensis*,

Candida sake, *Kloeckera apiculata*, *Trichosporon asahii*, *Trichosporon inkin*, *Trichosporon mucoides*.

Une étude clinique prospective et une étude rétrospective portant sur 120 souches représentatives des espèces identifiées sur la galerie AUXACOLOR TM 2, ont montré que :

- 92,5 % des souches testées sont identifiées en 48h (59,2 % en 24h).

Ce résultat s'explique par l'utilisation de nouveaux tests dans la galerie (tests hexosaminidase et proline-arylamidase) mais aussi par l'enrichissement de la liste des profils numériques pour les espèces répertoriées dans la notice.

- La galerie AUXACOLOR TM 2 permet de différencier la totalité des souches de *Candida dubliniensis* (5 souches testées) et *Candida albicans* (15 souches).

- L'association du test proline-arylamidase au test phénoloxydase enrichit la microplaque d'un test complémentaire utile pour identifier les souches de *Candida glabrata* (9 souches qui sont différenciées de *Candida zeylanoides*) ou pour différencier les espèces *Candida krusei* (6 souches) et *Candida lipolytica* (4 souches).

- Le test POX a permis de détecter l'activité phénoloxydasique de *Cryptococcus neoformans* pour les 4 souches testées.

Limite du test

1- La galerie AUXACOLOR TM 2 permet l'identification des seules espèces de levures indiquées dans le tableau d'interprétation.

2- Pour les espèces référencées, la base de données ne répertorie que les profils numériques les plus fréquemment rencontrés. Un profil numérique non répertorié peut correspondre à un profil rare d'une espèce référencée ou à une espèce non référencée. Se reporter au tableau d'interprétation pour compléter les informations contenues dans la base de données.

3- De façon exceptionnelle, il est possible que des espèces rares, non référencées dans la notice, aient un profil numérique identique à celui d'espèces référencées.

4- La microplaque AUXACOLOR TM 2 ne doit être utilisée qu'avec des souches pures. Les associations de levures sont détectées dans 16% des prélèvements. La culture sur **CandiSelect TM 4** ou PCB réalisée en parallèle du test sur AUXACOLOR TM 2, permet de visualiser les associations de levures.

5- Dans quelques cas, le milieu d'isolement utilisé peut influencer le virage de certains tests en 24h (xylose, hexosaminidase) sans que cela ne mette en cause l'identification des levures en 48h.

6- Test phénoloxydase/proline-arylamidase :

- de rares souches de *Cryptococcus neoformans* peuvent ne pas exprimer le caractère phénoloxydase.

- quelques souches de *Geotrichum capitatum*, *Geotrichum candidum*, *Trichosporon spp* et *Cryptococcus laurentii* peuvent entraîner une coloration gris-marron de la cupule. Dans ce cas, la réaction est négative et lors du codage, il faut attribuer la valeur «zéro» à ce puits.

- quelques souches de *Prototheca wickerhamii* peuvent exprimer le caractère proline-arylamidase.

7- Les revirages du «positif» vers le «négatif», c'est à dire le changement de couleur d'un puits initialement interprété «positif» en «négatif» ne doivent pas être pris en compte. Par exemple, un puits jaune à 24 ou 48h qui devient vert ou bleu à 48 ou 72h sera considéré comme positif.

8- En revanche, tout virage du «négatif» vers le «positif» au cours des premières 72h doit être pris en compte : le puits concerné doit être considéré comme positif. Par exemple, un puits bleu-gris ou bleu-vert à 24 ou 48h qui devient jaune à 48 ou 72h sera considéré comme positif.



FICHE TYPE QUALITATIF

VERIFICATION (PORTEE FLEXIBLE A) D'UNE METHODE DE BIOLOGIE MEDICALE

REFERENCE : SH FORM 44

INDICE DE REVISION : 00

DATE D'APPLICATION : 15/04/11

SPECIFICITE & SENSIBILITE DIAGNOSTIQUES

1) Répétabilité

a) MALDI TOF

Elle a été déterminée par l'analyse répétée 5 fois d'une souche de référence de *Candida krusei* ATCC 6258 dans une même série, dans des conditions identiques

Série du 29/10/2013 (Extraction longue)

N° lot Matrice : 0000171980

N° lot BTS : 0000168993

	1	2	3	4	5
score	2.123	2.262	2.2	2.252	2.239
opérateur	EC				
moyenne	2.215				

La répétabilité est tout à fait acceptable avec une moyenne des scores >2.
Les 5 dépôts ont été rigoureusement identiques.

b) TEST AGGLUTINATION BLCA/ galerie identification AUXACOLOR + RAT

Elle a été déterminée par l'analyse répétée 5 fois d'une souche de référence de *Candida Albicans* ATCC 90028 dans une même série, dans des conditions identiques

Série du 14/10/2014

	Répétabilité par EC le 14/10/14					
	BLCA	lot	AUXA	lot	RAT	lot
Souche ATCC 90028	blca+	8608	71442 calb	3G0188	F+ CHL+	170714
Souche ATCC 90028	blca+	8608	71442 calb	3G0188	F+ CHL+	170714
Souche ATCC 90028	blca+	8608	71442 calb	3G0188	F+ CHL+	170714
Souche ATCC 90028	blca+	8608	71442 calb	3G0188	F+ CHL+	170714
Souche ATCC 90028	blca+	8608	71442 calb	3G0188	F+ CHL+	170714

La répétabilité est tout à fait acceptable

2) Reproductibilité

a) MALDI TOF

Elle a été déterminée par l'analyse répétée 5 fois d'une souche de référence de *Candida krusei* ATCC 6258 en double dépôts dans différents séries.

Extraction longue



FICHE TYPE QUALITATIF

VERIFICATION (PORTEE FLEXIBLE A) D'UNE METHODE DE BIOLOGIE MEDICALE

REFERENCE : SH FORM 44

INDICE DE REVISION : 00

DATE D'APPLICATION : 15/04/11

Série	20131029	20131017	20131015	20131011	20130930	20150427	20150428	20150429
N°lot Matrice	000017198 0	000017198 0	0000171980	00001719 80	0000171980	0000216360	0000216360	0000220427
N° lot BTS	000016899 3	000016899 3	0000168993	00001689 93	0000168993	0000214063	0000214063	0000214063
score	2.252/2.23 9	2.27/2.318	2.327/2.298	2.15/2.27	2.321/2.287	2.237/2.178	2.296/2.299	2.5/2.528
Opérateur	EC	EC	EC	SML	EC	NK	NK	NK
moyenne	2.297							

La reproductibilité est tout à fait acceptable avec des scores >2.

b) TEST AGGLUTINATION BLCA/ galerie identification AUXACOLOR + RAT

Elle a été déterminée par l'analyse répétée 5 fois d'une souche de référence de *Candida albicans* ATCC 90028 dans différentes séries.

	Reproductibilité par 3 opérateurs/5 dates différentes							
	date	BLCA	lot	AUXA	lot	RAT	lot	initiales
Souche ATCC 90028	06/01/2014	blca+	8608	71442 calb	3G0188	F+ CHL+	210113	ec
Souche ATCC 10231	31/03/2014	blca+	8608	71442 calb	3G0188	F+ CHL+	150114	sml
Souche ATCC 10231	21/07/2014	blca+	8608	71442 calb	3G0188	F+ CHL+	150114	ec
Souche ATCC 90028	18/08/2014	blca+	8608	71442 calb	3G0188	F+ CHL+	170714	nk
Souche ATCC 90028	25/09/2014	blca+	8608	71442 calb	3G0188	F+ CHL+	170714	ec

La reproductibilité est tout à fait acceptable

c) COMPARAISON INTER OPERATEURS

Elle a été déterminée par l'analyse de 5 souches avec 2 opérateurs différents.

N° GLIMS	DATE	MALDI	lot	SCORES	PLAQUE/SPOTS	BLCA	AUXA lot 4M0203	RAT lot 170714	INITIALES
150409100701	13/04/15	CALB	Matrice : 0000215177 BTS : 0000201835	2,275/2,309	0334 A1/A2	POS	71452 CALB	F+ Chl+	NK
150410271501	13/04/15	CPAR		2,26/2,274	0334 A4/A5	NA	71471 CPAR	F+	NK
150410138601	13/04/15	TGLA		2,298/2,312	0334 A7/A8	NA	10400 TGLA	F-	NK
150413175101	13/04/15	CKRU		2,212/2,32	0334 A10/A11	NA	10000 CKRU	F+	NK
150413260301	14/04/15	TGLA		2,299/2,399	0334 F1/F2	NA	10400 TGLA	F-	NK



FICHE TYPE QUALITATIF

VERIFICATION (PORTEE FLEXIBLE A) D'UNE METHODE DE BIOLOGIE MEDICALE

REFERENCE : SH FORM 44

INDICE DE REVISION : 00

DATE D'APPLICATION : 15/04/11

N° GLIMS	JOUR	MALDI	lot	SCORES	PLAQUE/SPOTS	BLCA	AUXA lot 4M0203	RAT Lot 170714	INITIALES
150409100701	16/04/15	CALB	Matrice : 0000215177 BTS : 0000201835	2,234/2,352	0334 D5/D6	POS	71452 CALB	F+CHL+	EC
150410271501	16/04/15	CPAR		1,987(*4)/2,151	0334 D8/D9	NA	71471 CPAR	F+	EC
150410138601	16/04/15	TGLA		2,381/2,367	0334 D2/D3	NA	10400 TGLA	F-	EC
150413175101	16/04/15	CKRU		2,309/2,385	0334 D11/D12	NA	10000 CKRU	F+	EC
150413260301	16/04/15	TGLA		2,348/2,298	0334 C11/C12	NA	10400 TGLA	F-	EC

La comparaison inter opérateurs est tout à fait acceptable

CQI / EEQ

- a) CQI : Une souche de référence *Candida krusei* ATCC 6258 est testée en double dépôt à chaque série, ainsi qu'un témoin négatif et témoin constructeur Bacterial Test Standard (*E.coli*)
- b) EEQ :
- UKNEQUAS (United Kingdom National External Quality Assessment Service) tri annuel
 - CTCB (Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie Clinique) bi annuel
 - Contrôle **national ANSM** (annuel, 1 échantillon)



FICHE TYPE QUALITATIF

VERIFICATION (PORTEE FLEXIBLE A) D'UNE
METHODE DE BIOLOGIE MEDICALE

REFERENCE : SH FORM 44

INDICE DE REVISION : 00

DATE D'APPLICATION : 15/04/11

CONTAMINATION

Inter échantillon pour les paramètres sensibles :

MALDI TOF : les souches à identifier sont réalisées en double dépôt.
TEST AGGLUTINATION/ GALERIE /RAT : L'évaluation de la contamination inter échantillons en méthode manuelle ne peut être réalisée selon les recommandations du SH GT04 car chaque échantillon est réalisé individuellement.
La contamination inter échantillon peut exister lors de la retranscription des résultats dans le SIL ou lors de l'étiquetage ou du marquage des ID des patients (formation et habilitation du personnel, et vérification de l'intégrité des données).

Inter réactif si nécessaire :

MALDI TOF : un contrôle négatif est réalisé à chaque série. Il doit obtenir un score de <0
TEST AGGLUTINATION/ GALERIE /RAT : test à usage unique.

Vérification sur site :

MALDI TOF n° lot Matrice : 0000171980 (pour les 5 séries)
N° lot BTS : 0000168993 (pour les 5 séries)

Déterminé dans des séries différentes :

Série	131028	131016	131017	131018	131015
Score T neg	<0	<0	<0	<0	<0
Opérateur	EC	EC	EC	EC	EC

Déterminé dans les mêmes séries intercalées avec des puits contenant des souches :

n° lot Matrice : 0000215177

N° lot BTS : 0000201835

N° GLIMS	DATE	MALDI	SCORES	PLAQUE/SPOTS	TNEG / SPOT	initiales
150409100701	13/04/2015	CALB	2,275/2,309	0334 A1/A2	< 0 A3	NK
150410271501	13/04/2015	CPAR	2,26/2,274	0334 A4/A5	< 0 A6	NK
150410138601	13/04/2015	TGLA	2,298/2,312	0334 A7/A8	< 0 A9	NK
150413175101	13/04/2015	CKRU	2,212/2,32	0334 A10/A11	< 0 A 12	NK
150413260301	14/04/2015	TGLA	2,299/2,399	0334 F1/F2	< 0 F3	NK
N° GLIMS	JOUR	MALDI	SCORES	PLAQUE/SPOTS	TNEG / SPOT	initiales
150409100701	16/04/2015	CALB	2,234/2,352	0334 D5/D6	<0 D4	EC
150410271501	16/04/2015	CPAR	1,987(*4)/2,151	0334 D8/D9	<0 D7	EC
150410138601	16/04/2015	TGLA	2,381/2,367	0334 D2/D3	<0 D1	EC
150413175101	16/04/2015	CKRU	2,309/2,385	0334 D11/D12	<0 D10	EC
150413260301	16/04/2015	TGLA	2,348/2,298	0334 C11/C12	<0 C9	EC

Absence de contamination entre les puits.



FICHE TYPE QUALITATIF

VERIFICATION (PORTEE FLEXIBLE A) D'UNE METHODE DE BIOLOGIE MEDICALE

REFERENCE : SH FORM 44

INDICE DE REVISION : 00

DATE D'APPLICATION : 15/04/11

COMPARAISON DE METHODES

Méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire :	Identification par tests phénotypiques (auxanogramme, ID32C, et agglutination latex, RAT) Confère Annexe 1
Nombre de mesures :	30 souches + 5 souches références
Descriptif de l'échantillon étudié :	Cultures pures, issues des prélèvements de la routine et des souches références
Méthode d'exploitation des résultats (études des concordances) :	% de concordance
Résultats et interprétations des discordances :	Cf résultat annexe n°1
Conclusions et dispositions :	Très bon niveau de concordance. Méthode validée.

BIBLIOGRAPHIES

1-MALDI TOF

Evaluation of four pretreatment procedures for MALDI-TOF MS yeast identification in the routine clinical laboratory.

Cassagne C, Cella AL, Suchon P, Normand AC, Ranque S, Piarroux R.
Med Mycol. 2013 May;51(4):371-7.

Evaluation of two matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) systems for the identification of Candida species.

Lacroix C, Gicquel A, Sendid B, Meyer J, Accoceberry I, François N, Morio F, Desoubeaux G, Chandener J, Kauffmann-Lacroix C, Hennequin C, Guitard J, Nassif X, Bougnoux ME.
Clin Microbiol Infect. 2014 Feb;20(2):153-8.

2-RAT

Cahier de formation biologie médicale n°44 (2010) les levures et levuroses Bioforma p82

3-TEST AGGLUTINATION BLCA

Cahier de formation biologie médicale n°44 (2010) les levures et levuroses Bioforma p82-84

4-GALERIE IDENTIFICATION AUXACOLOR

Cahier de formation biologie médicale n°44 (2010) les levures et levuroses Bioforma p87

Conclusion :

Validation méthode de l'identification des levures par MALDI-TOF

La spectrométrie de masse de type MALDI-TOF est une technique utilisée pour l'identification des micro-organismes. Equipé d'un MALDI-TOF, nous réalisons toutes les identifications de levures par cette technique.



FICHE TYPE QUALITATIF
VERIFICATION (PORTEE FLEXIBLE A) D'UNE
METHODE DE BIOLOGIE MEDICALE

REFERENCE : SH FORM 44

INDICE DE REVISION : 00

DATE D'APPLICATION : 15/04/11

But : vérifier que pour une espèce fongique donnée, le système expert donne toujours la même identification avec des scores validant l'identification (cf. MO identification des levures et filamenteux par Maldi-Tof extraction longue). Nous utilisons ce système expert selon les recommandations du constructeur et en utilisant la banque de donnée ayant obtenu le marquage CE-IVD.

Méthode validée juin 2014

Biologiste

:



FICHE TYPE QUALITATIF

VERIFICATION (PORTEE FLEXIBLE A) D'UNE METHODE DE BIOLOGIE MEDICALE

REFERENCE : SH FORM 44

INDICE DE REVISION : 00

DATE D'APPLICATION : 15/04/11

ANNEXE 1

COMPARAISON GALERIE VS MALDI sur culture pure de 24 à 48H

n°souche	auxa	n°lot	p32	n°lot	maldi	score
1 130218 2586 01	calb	2L0179	calb	1001464730	calb	2,18
2 130225 2309 01	calb	2L0179	calb	1001464730	calb	2,2
3 130211 1862 01	cdub	2L0179	calb	1001464730	cdub	2,18
4 130219 1906 01	tgla	2L0179	tgla	1001464730	tgla	2,2
5 130225 2303 01	tgla	2L0179	tgla	1001464730	tgla	2,17
6 130211 3010 01	ckef	2L0179	ckef	1001464730	ckef	2,35
7 130218 2693 01	ckef	2L0179	ckef	1001464730	ckef	1,83
8 130219 0957 01	ckef	2L0179	ckef	1001464730	ckef	2,4
9 130208 0738 01	clus	2L0179	clus	1001464730	clus	2,29
10 130208 0738 02	clus	2L0179	cpar	1001464730	cpar	2,23
11 130211 2892 01	clus	2L0179	tfam	1001464730	clus	2,13
12 130211 2892 02	clus	2L0179	clus	1001464730	clus	2,03
13 130207 1168 01	cpar	2L0179	cpar	1001464730	cpar	2,15
14 130211 2023 01	cpar	2L0179	cpar	1001464730	cpar	2,27
15 130212 1524 01	cpar	2L0179	cpar	1001464730	cpar	2,29
16 130213 0893 01	cpar	2L0179	cpar	1001464730	cpar	2,24
17 130215 1596 01	cpar	2L0179	cgui 57%	1001464730	cpar	2,24
18 130218 1132 01	cpar	2L0179	cpar	1001464730	cpar	2,22
19 130215 1673 01	cpar	2L0179	non valide	1001464730	cpar	2,14
20 130212 1453 01	cpar	2L0179	cpar	1001876940	cpar	2,07
21 130213 1886 01	cpar	2L0179	cpar	1001876940	cpar	2,04
22 130226 2035 01	cpar	2L0179	cpar	1001876940	cpar	2,19
23 130208 1154 01	ctro	2L0179	ctro	1001876940	ctro	2,11
24 130208 0764 01	ctro	2L0179	ctro	1001876940	ctro	2,18
25 130213 2594 01	ctro	2L0179	ctro	1001876940	ctro	2,03
26 130213 2257 01	ctro	2L0179	ctro	1001876940	ctro	2,13
27 130219 1904 01	ctro	2L0179	tfam	1001876940	ctro	2,05
28 130220 2684 03	gcan	2L0179	gcan	1001876940	gsil	2,05
29 130301 2416 01	scer	2L0179	scer	1001876940	scer	2,2
30 130304 2384 01	gcan	2L0179	gcan	1001876940	gsil	2,09

SOUCHES DE REFERENCES sur culture pure de 24 à 48H

souches références	auxa	lot	p32	lot	maldi	score
Cq Calb 10231	calb	2L0179	calb	1001876940	calb	2,29
Cq Calb 3153 A	calb	2L0179	calb	1001876940	calb	2,25
ATCC Calb 90028	calb	2L0179	calb	1001876940	calb	2,18
ATCC Ckru 6258	ckru	2L0179	ckru	1001876940	ckru	1,91
ATCC Cpar 22019	cpar	2L0179	cpar	1001876940	cpar	2,02

RESULTATS

souches patients			souches références		
n=30	auxa/maldi	p32/maldi	n=5	auxa/maldi	p32/maldi
discordance	3	7	discordance	0	0
	10%	23%		100%	100%



FICHE TYPE QUALITATIF

VERIFICATION (PORTEE FLEXIBLE A) D'UNE METHODE DE BIOLOGIE MEDICALE

REFERENCE : SH FORM 44

INDICE DE REVISION : 00

DATE D'APPLICATION : 15/04/11

COMPARAISON TEST RAPIDE VS MALDI sur culture pure de 24 à 48H

	n° souche	test	n° lot	maldi	score
1	130204 2597 01 col2	blca+	8350	calb	2,18
2	130226 1859 01	blca+	8350	calb	2,14
3	130226 1942 01	blca+	8350	calb	2,11
4	130226 1942 01	blca+	8350	calb	1,85
5	130226 1960 01	blca+	8350	calb	2,26
6	130226 1972 01	blca+	8350	calb	2,22
7	130226 1931 01	blca+	8350	calb	2,19
8	13030 11568 01	blca+	8350	calb	2,22
9	130226 1900 01	blca+	8350	calb	2,13
10	130226 1927 01	blca+	8350	calb	2,15
11	130301 1439 01	blca+	8350	calb	2,34
12	130301 1945 01	blca+	8350	calb	2,34
13	130304 2893 02	blca+	8350	calb	2,31
14	130205092601 COL1	rtt+	8337	tgla	2,1
15	130204 1209 02	rtt+	8337	tgla	2,11
16	130301 2419 02	rtt+	8337	tgla	2,27
17	130424 2519 01	rtt+	8337	tgla	2,14
18	130424 1946 01	rtt+	8445	tgla	2,07
19	130423 0800 01	rtt+	8445	tgla	2,04
20	130424 1904 01	rtt+	8445	tgla	2,19
21	130424 2465 01	rtt+	8445	tgla	2,11
22	130423 2078 01	rtt+	8445	tgla	2,18
23	130503 0822 01	rtt+	8445	tgla	2,03
24	130502 2144 01	rtt+	8445	tgla	2,18
25	13043 0661 01	rtt+	8445	tgla	2,2
26	130729 2681 01	blck +	5090	ckru	2,263
27	130806 1168 01	blck +	5090	ckru	2,2
28	130502 1042 01	blck +	5090	ckru	2,17
29	130205 0859 01	blck +	5090	ckru	2,35
30	130204 1209 01	blck +	5090	ckru	2,2

SOUCHES DE REFERENCES sur culture pure de 24 à 48H

souches références	tests rapides	lot	maldi	score
Cq Calb 10231	Blca +	8350	calb	2,29
Cq Calb 3153 A	Blca +	8350	calb	2,25
ATCC Calb 90028	Blca +	8350	calb	2,18
ATCC Ckru14243	Blck +	5090	ckru	1,91

RESULTATS

souches patients			
n=30	blca/maldi	rtt/maldi	ckru/maldi
discordance	0	0	0
	100,00%	100,00%	100,00%

souches références			
	blca/maldi	rtt/maldi	ckru/maldi
discordance	0	NA	0
	100,00%	NA	100,00%