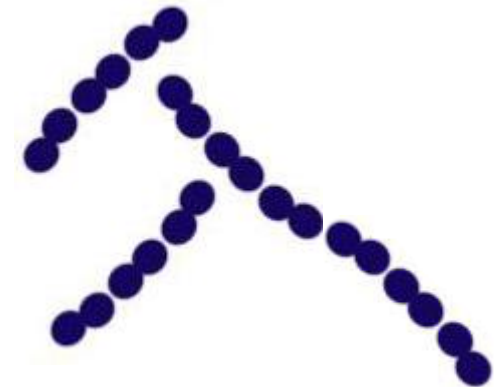


CAT: MALDI-TOF identificatie van viridans streptokokken

Leonie Smets

Supervisie: Melissa Depypere, Stefanie Desmet

Laboratoriumgeneeskunde UZ Leuven



Inhoud

Inleiding

Vragen

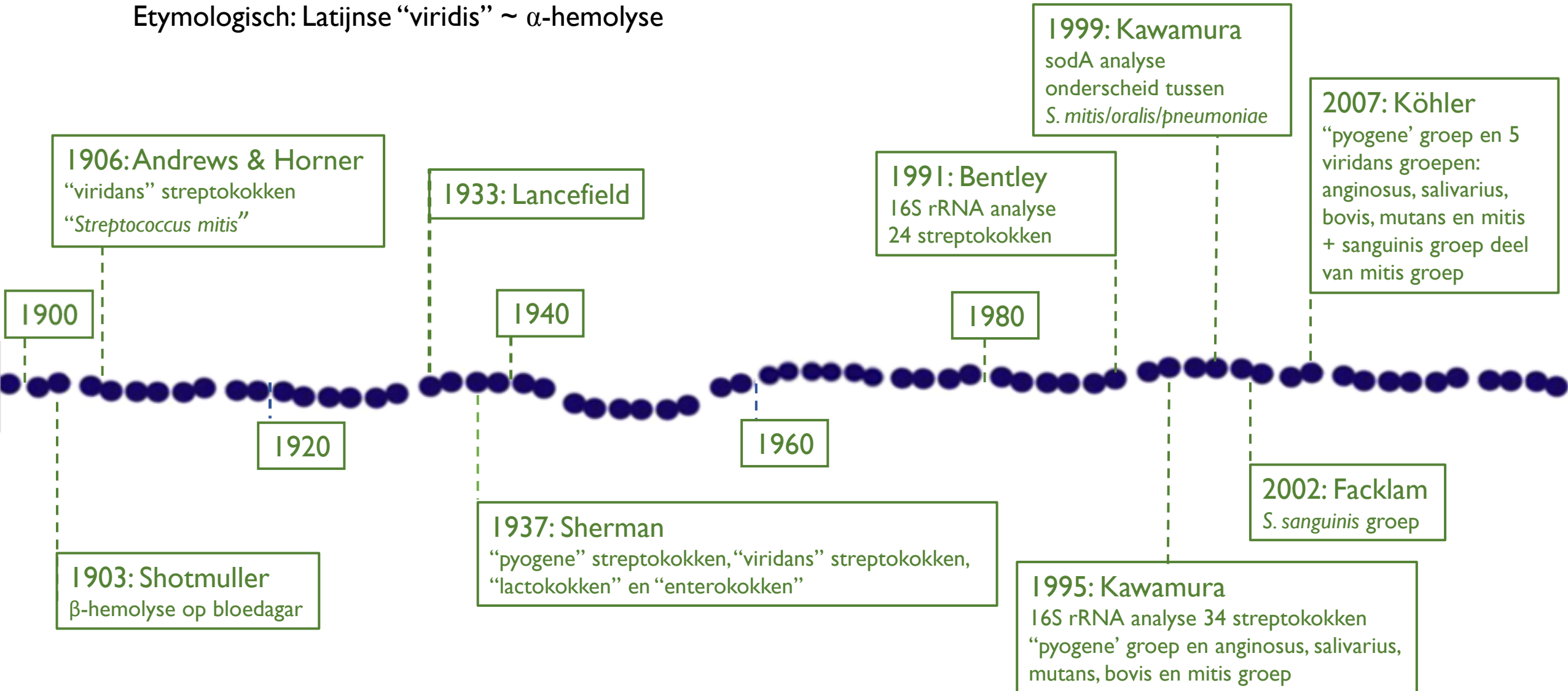
1. Is het klinisch relevant om viridans streptokokken tot op species/subspecies niveau te identificeren of volstaat identificatie tot op groep niveau?
2. Hoe betrouwbaar is MALDI-TOF MS voor de identificatie viridans streptokokken?

Conclusie

To Do

Viridans streptokokken

Etymologisch: Latijnse “viridis” ~ α -hemolyse



Huidige indeling

Streptococcus anginosus groep:

S. anginosus subsp. *anginosus*, *S. anginosus* subsp. *whileyi*, *S. intermedius*, *S. constellatus* subsp. *constellatus*, *S. constellatus* subsp. *pharyngis*,
S. constellatus subsp. *viborgensis*

Streptococcus bovis groep:

S. alactolyticus, *S. equinus*, *S. gallolyticus* subsp. *gallolyticus*, *S. gallolyticus* subsp. *macedonicus*, *S. gallolyticus* subsp. *pasteurianus*, *S. infantarius*
subsp. *infantarius*, *S. infantarius* subsp. *coli*

Streptococcus salivarius groep:

S. salivarius, *S. vestibularis* (en *S. thermophilus*)

Streptococcus mutans groep:

S. mutans, *S. sobrinus*, *S. criceti*, *S. downei*, *S. rattii*, (*S. ferus*, *S. macaccae*, *S. hyovaginalis* en *S. devriesei*)

Streptococcus mitis groep:

S. pneumoniae, *S. mitis*, *S. oralis*, *S. pseudopneumoniae*, *S. cristatus*, *S. infantis*, *S. peroris*, *S. rubneri*, *S. dentisani*, *S. australis*, *S. sinensis*,
S. oligofermentans, *S. massiliensis*, *S. tigurinus*, *S. lactarius*, *S. sanguinis*, *S. parasanguinis* en *S. gordonii*

Deel I: klinische relevantie viridans streptokokken

Streptococcus anginosus groep

Streptococcus bovis groep

Streptococcus salivarius groep

Streptococcus mutans groep

Streptococcus mitis groep

Besluit

Klinische relevantie: *Streptococcus anginosus* groep

3 species, 5 subspecies:

Streptococcus anginosus

subsp. *anginosus*

subsp. *whileyi*

Streptococcus intermedius

Streptococcus constellatus

subsp. *constellatus*

subsp. *pharyngis*

subsp. *viborgensis*



15-40% gezonde populatie commensale flora orofaryngeale, gastro-intestinale en urogenitale mucosae

associatie met pyogene infecties en abcesvorming

associatie met overige infecties zoals bacteriëmie, cultuur negatieve pneumonie en urineweginfecties

Klinische relevantie: *Streptococcus anginosus* groep

Fylogenetische groep	species	subspecies	kliniek
<i>Streptococcus anginosus</i> groep (SAG)	<i>S. anginosus</i>	<i>anginosus</i> <i>whileyi</i>	Pyogene infecties en abcesvorming met abdominale focus
	<i>S. constellatus</i>	<i>constellatus</i>	Respiratoire focus: pneumonie, pulmonale exacerbaties bij mucoviscidose
		<i>viborgensis</i> <i>pharyngis</i>	Respiratoire focus, faryngitis
	<i>S. intermedius</i>		Pyogene infecties, bacteriëmie, lever- en hersenabcessen

→ verschillende foci

S. anginosus: abdominale infecties en oppervlakkige abcessen

S. constellatus: respiratoire infecties

S. intermedius: diepe abcessen, hematogeen spreidingspatroon

S. constellatus ~ pulmonale exacerbaties bij mucoviscidose?

Klinische relevantie: *Streptococcus bovis* groep

4 species, 5 subspecies:

Streptococcus alactolyticus

Streptococcus equinus

Streptococcus gallolyticus

subsp. *gallolyticus*

subsp. *macedonicus*

subsp. *pasteurianus*

Streptococcus infantarius

subsp. *infantarius*

subsp. *coli*

runder- en zuivelproducten, onderdeel normale gastro-intestinale flora

vroegere naam “*Streptococcus milleri*” groep

associatie met:

infectieuze endocarditis

hepatobiliaire infecties

bacteriële meningitis

gastro-intestinale neoplasie



Klinische relevantie: *Streptococcus bovis* groep

Fylogenetische groep	species	subspecies	kliniek
<i>Streptococcus bovis</i> groep (SBG)	<i>S. alactolyticus</i>		Infectieuze endocarditis [°]
	<i>S. equinus</i>		Bacteriëmie, infectieuze endocarditis
	<i>S. gallolyticus</i>	<i>gallolyticus</i>	Bacteriëmie, infectieuze endocarditis, coloncarcinooma
		<i>pasteurianus</i>	Meningitis, bacteriëmie, hepatobiliaire infecties
	<i>S. infantarius</i>	<i>macedonicus</i>	Bacteriëmie, infectieuze endocarditis
		<i>infantarius</i>	Bacteriëmie, hepatobiliaire infecties, galweg-en pancreasCa
<i>S. lutetiensis</i> *	<i>coli</i> *		

Legende:

[°] beperkte literatuur omtrent isolatie uit klinische stalen

* *S. infantarius* subsp. *coli* wordt door sommige auteurs *S. lutetiensis* genoemd

infectieuze endocarditis:

oudere mannen, vaak meerdere native hartkleppen

hepatobiliaire infecties:

vooral *S. infantarius* en *S. gallolyticus ssp. pasteurianus*

bacteriële meningitis:

foetomaternale transmissie?

~prematuuriteit

zeer goede prognose

gastro-intestinale neoplasie:

bij 33-71% van *S. gallolyticus ssp. gallolyticus* bacteriëmie → steeds screening (coloscopie)!

ook bij andere (sub)species!

overige infecties: urineweginfecties, osteo-articulaire infecties en peritonitis bij levercirrose

Klinische relevantie: *Streptococcus salivarius* groep

3 species:

Streptococcus salivarius

Streptococcus vestibularis

(*Streptococcus thermophilus*)

S. salivarius en *S. vestibularis*: orale commensale flora

S. thermophilus: zuivelproducten, niet-humaan

ernstige infecties bij immuun gecompromitteerde patiënten

iatrogene meningitis



Fylogenetische groep	species	kliniek
<i>Streptococcus salivarius</i> groep (SSG)	<i>S. salivarius</i>	Pneumonie, bacteriëmie, sepsis, endocarditis en katheterinfecties bij patiënten met uitgebreide comorbiditeiten; iatrogene meningitis
	<i>S. vestibularis</i>	
	<i>S. thermophilus</i>	\

Legende:

\ enkel geïsoleerd uit niet humane stalen

Klinische relevantie: *Streptococcus mutans* groep

Fylogenetische groep	species	kliniek
<i>Streptococcus mutans</i> groep (SMuG)	<i>S. mutans</i>	Pathogenese van cariës
	<i>S. sobrinus</i>	Bacteriëmie, infectieuze endocarditis
	<i>S. cricetus</i>	
	<i>S. downei</i>	
	<i>S. ratti</i>	
	<i>S. ferus</i>	\
	<i>S. macaccae</i>	\
	<i>S. hyovaginalis</i>	\
	<i>S. devriesei</i>	\

Legende: \ enkel geïsoleerd uit niet-humane stalen

verschillende species:

Streptococcus mutans, *Streptococcus sobrinus*,
Streptococcus criceti, *Streptococcus downei*, *Streptococcus ratti*
(*S. ferus*, *S. macaccae*, *S. hyovaginalis* en *S. devriesei*)

zeldzaam bacteriëmie en infectieuze endocarditis

pathogenese tandcariës



Klinische relevantie: *Streptococcus mitis* groep

18 humane species:

S. mitis, *S. oralis*, *S. cristatus*, *S. infantis*, *S. peroris*, *S. rubneri*, *S. dentisani*, *S. australis*, *S. sinensis*, *S. oligofermentans*, *S. massiliensis*, *S. tigurinus*,
S. lactarius
tevens *S. pneumoniae* en *S. pseudopneumoniae*
voormalige *S. sanguinis* groep: *S. sanguinis*, *S. parasanguinis* en *S. gordonii*
(*S. oribeci*, *S. orisratti* en *S. panodentis*)

orale caviteit bij mens en dier
(uitz. *S. lactarius*: moedermelk)

invasieve infecties:

neutropene patiënten † 6-30%
vooral bacteriëmie en infectieuze endocarditis

tevens: tandcariës, ooginfecties, osteomyelitis, spondylodiscitis, meningitis en onderste luchtweginfecties

voormalige *S. sanguinis* groep:

tevens bacteriëmie en infectieuze endocarditis
ook septische artritis, spondylodiscitis en spontane bacteriële peritonitis
S. sanguinis en gastro-intestinale neoplasie?
voorlopig nog geen screening aangewezen (↔ *S. bovis* groep)

Klinische relevantie: *Streptococcus mitis* groep

Fylogenetische groep	species	kliniek
<i>Streptococcus mitis</i> groep (SMG)	<i>S. mitis</i>	Bacteriëmie, endocarditis
	<i>S. oralis</i>	Bacteriëmie, endocarditis, meningitis
	<i>S. cristatus</i>	Bacteriëmie, endocarditis [°]
	<i>S. infantis</i>	Bacteriëmie [°]
	<i>S. peroris</i>	/
	<i>S. rubneri</i>	/
	<i>S. dentisani</i>	/
	<i>S. australis</i>	Bacteriëmie [°]
	<i>S. sinensis</i>	Endocarditis bij onderliggend reumatisch hartlijden
	<i>S. oligofermentans</i>	Infectieuze endocarditis [°]
	<i>S. massiliensis</i>	Bacteriëmie [°]
	<i>S. tigurinus</i>	Invasieve infecties: endocarditis, spondylodiscitis, meningitis
	<i>S. lactarius</i>	Mastitis [°]
	<i>S. pseudopneumoniae</i>	Respiratoire focus: bronchitis, pneumonie en pulmonale exacerbaties bij COPD en mucoviscidose; zeldzame verwekker van endoftalmitis
	<i>S. orisratti</i>	\
	<i>S. oribeci</i>	\
	<i>S. panodentis</i>	\
	<i>S. pneumoniae</i>	Niet-invasieve infecties: sinusitis, acute otitis media en community-acquired pneumonie (CAP) Invasieve infecties: meningitis, bacteriëmie en bacteriële pneumonie
	<i>S. sanguinis</i> *	Bacteriëmie, infectieuze endocarditis; associatie met colorectale carcinoma?
	<i>S. parasanguinis</i> *	Bacteriëmie, infectieuze endocarditis
<i>S. gordonii</i> *	Septische artritis, infectieuze endocarditis, spontane bacteriële peritonitis en spondylodiscitis	

Legende:

- [°] beperkte literatuur omtrent isolatie uit klinische stalen
- / klinisch niet relevant of klinische relevantie onduidelijk
- \ enkel geïsoleerd uit niet-humane stalen
- * voormalige *S. sanguinis* groep

Besluit klinische relevantie



Richtlijn M58 (MALDI-TOF MS identificatie micro-organismen):

“Identificatie tot op **groep niveau is aanvaardbaar** voor sommige **zeer verwante species** indien bijkomende identificatie **geen verder klinisch belang** heeft.”

“Identificatie tot op species of subspecies niveau wordt **steeds aangeraden** bij:

- micro-organismen met **belangrijke impact op de volksgezondheid**;
- micro-organismen geassocieerd met **ernstige comorbiditeiten**;
- micro-organismen met **prognostische implicaties**;
- micro-organismen **resistent** tegen **frequent gebruikte antibiotica**.”

Klinische relevantie: *Streptococcus salivarius* groep

3 species:

Streptococcus salivarius

Streptococcus vestibularis

(*Streptococcus thermophilus*)

S. salivarius en *S. vestibularis*: orale commensale flora

S. thermophilus: zuivelproducten, niet-humaan



ernstige

→ identificatie tot op groep niveau aanvaardbaar

iatrogene meningitis



Fylogenetische groep	species	kliniek
<i>Streptococcus salivarius</i> groep (SSG)	<i>S. salivarius</i>	Pneumonie, bacteriëmie, sepsis, endocarditis en katheterinfecties bij patiënten met uitgebreide comorbiditeiten; iatrogene meningitis
	<i>S. vestibularis</i>	
	<i>S. thermophilus</i>	\

Legende:

\ enkel geïsoleerd uit niet humane stalen

Klinische relevantie: *Streptococcus mutans* groep

Fylogenetische groep	species	kliniek
<i>Streptococcus mutans</i> groep (SMuG)	<i>S. mutans</i>	Pathogenese van cariës
	<i>S. sobrinus</i>	Bacteriëmie, infectieuze endocarditis
	<i>S. cricetus</i>	
	<i>S. downei</i>	
	<i>S. ratti</i>	
	<i>S. ferus</i>	



→ identificatie tot op groep niveau aanvaardbaar

Legende:

verschillende species:

Streptococcus mutans, *Streptococcus sobrinus*,
Streptococcus criceti, *Streptococcus downei*, *Streptococcus ratti*
(*S. ferus*, *S. macaccae*, *S. hyovaginalis* en *S. devriesei*)

zeldzaam bacteriëmie en infectieuze endocarditis

pathogenese tandcariës

Klinische relevantie: *Streptococcus anginosus* groep

Fylogenetische groep	species	subspecies	kliniek
<i>Streptococcus anginosus</i> groep (SAG)	<i>S. anginosus</i>	<i>anginosus</i> <i>whileyi</i>	Pyogene infecties en abcesvorming met abdominale focus
	<i>S. constellatus</i>	<i>constellatus</i>	Respiratoire focus: pneumonie, pulmonale exacerbaties bij mucoviscidose
		<i>viborgensis</i> <i>pharyngis</i>	Respiratoire focus, faryngitis
	<i>S. intermedius</i>		Pyogene infecties, bacteriëmie, lever- en hersenabcessen

→ verschillende foci

S. anginosus: abdominale infecties en oppervlakkige abcessen

S. constellatus: respiratoire infecties

S. intermedius: diepe abcessen, hematogeen spreidingspatroon

S. constellatus ~ pulmonale exacerbaties bij mucoviscidose?

→ identificatie tot op groep niveau aanvaardbaar

Streptococcus bovis new taxonomy: does subspecies distinction matter?

E. Ben-Chetrit¹ · Y. Wiener-Well¹ · L. Kashat² · A. M. Yinnon³ · M. V. Assous²

Table 3 Clinical syndromes associated with bacteremia of *S. bovis/equinus* complex subspecies. Combined data obtained from four additional studies

	Reference	Colon pathology: any lesions, <i>n</i> (%); malignant lesions, <i>n</i> (%)	Cholecystitis or cholangitis, <i>n</i> (%)	Infective endocarditis, <i>n</i> (%)
<i>S. gallolyticus</i> ssp. <i>gallolyticus</i>	Present series (<i>n</i> = 6)	3 (50); 2 (33.4)	0	1 (20)
	Beck et al. [9] (<i>n</i> = 21)	7 (33.3); 2 (9.5)	5 (23.8)	9 (43)
	Romero et al. [10] (<i>n</i> = 14)	4 (28.6); 1 (7.1)	3 (21.4)	1 (7)
	Lazarovitch et al. [11] (<i>n</i> = 6)	3 (50); NA	1 (20)	2 (33)
	Sheng et al. [12] (<i>n</i> = 31)	10 (32.2); 5 (16.1)	0	16 (52)
	Total (<i>n</i> = 78)	27 (34.6)	9 (11.5)	29 (37.2)
<i>S. gallolyticus</i> ssp. <i>pasteurianus</i>	Present series (<i>n</i> = 26)	7 (26.9); 4 (15.4)	8 (30)	5 (19.2)
	Beck et al. [9] (<i>n</i> = 11)	0	4 (36.3)	0
	Romero et al. [10] (<i>n</i> = 24)	11 (45.8)	5 (20.8)	6 (25)
	Lazarovitch et al. [11] (<i>n</i> = 13)	4 (31); NA	1 (14)	3 (23)
	Sheng et al. [12] (<i>n</i> = 121)	27 (22.3); 19 (15.7)	14 (11.6)	17 (14)
	Total (<i>n</i> = 195)	49 (25.1)	32 (16.4)	31 (15.9)
<i>S. infantarius</i>	Present series (<i>n</i> = 6)	2 (33)	0	1 (20)
	Beck et al. [9] (<i>n</i> = 14)	4 (28.6); 1 (7.1)	4 (28.6)	4 (28.6)
	Romero et al. [10] (<i>n</i> = 7)	1 (14.3)	1 (14.3)	0
	Lazarovitch et al. [11] (<i>n</i> = 5)	3 (60); NA	1 (20)	0
	Sheng et al. [12] (<i>n</i> = 13)	0	0	0
	Total (<i>n</i> = 45)	10 (22.2)	6 (13.3)	5 (8.9)
<i>S. gallolyticus</i> ssp. <i>macedonicus</i>	Present series (<i>n</i> = 2)	2 (100)	0	1 (50)

“However, we showed that, eventually, **all ‘bovis’ subspecies may be associated with either colonic lesions or IE.** We, therefore, question the necessity of timeconsuming and expensive diagnostic efforts (such as 16S rRNA gene sequencing) to attain definite subspecies distinction, since **recovery of any subspecies in blood cultures warrants transesophageal echocardiography and colonoscopy.** The use of MALDI-TOF technology allowed rapid and excellent pathogen detection at the species level, which may suffice in terms of clinical implications and patient management.”

Klinische relevantie: *Streptococcus bovis* groep

Fylogenetische groep	species	subspecies	kliniek	
<i>Streptococcus bovis</i> groep (SBG)	<i>S. alactolyticus</i>		Infectieuze endocarditis [°]	
	<i>S. equinus</i>		Bacteriëmie, infectieuze endocarditis	
	<i>S. gallolyticus</i>		<i>gallolyticus</i>	Bacteriëmie, infectieuze endocarditis, coloncarcinooma
			<i>pasteurianus</i>	Meningitis, bacteriëmie, hepatobiliaire infecties
			<i>macedonicus</i>	Bacteriëmie, infectieuze endocarditis
	<i>S. infantarius</i>		<i>infantarius</i>	Bacteriëmie, hepatobiliaire infecties, galweg-en pancreasCa
	<i>S. lutetiensis</i> *	<i>coli</i> *		

Legende:

[°] beperkte literatuur omtrent isolatie uit klinische stalen

* *S. infantarius* subsp. *coli* wordt door sommige auteurs *S. lutetiensis* genoemd

infectieuze endocarditis:

oudere mannen, vaak meerdere native hartkleppen

hepatobiliaire infecties:

vooral *S. infantarius* en *S. gallolyticus* ssp. *pasteurianus*

bacter

→ identificatie tot op groep niveau aanvaardbaar

zeer goede prognose

gastro-intestinale neoplasie:

bij 33-71% van *S. gallolyticus* ssp. *gallolyticus* bacteriëmie → steeds screening (coloscopie)!

ook bij andere (sub)species!

overige infecties: urineweginfecties, osteo-articulaire infecties en peritonitis bij levercirrose

Klinische relevantie: *Streptococcus mitis* groep

Fylogenetische groep	species	kliniek
<i>Streptococcus mitis</i> groep (SMG)	<i>S. mitis</i>	Bacteriëmie, endocarditis
	<i>S. oralis</i>	Bacteriëmie, endocarditis, meningitis
	<i>S. cristatus</i>	Bacteriëmie, endocarditis [°]
	<i>S. infantis</i>	Bacteriëmie [°]
	<i>S. peroris</i>	/
	<i>S. rubneri</i>	voornamelijk geassocieerd met bacteriëmie en infectieuze endocarditis
	<i>S. dentisani</i>	
	<i>S. australis</i>	
	<i>S. sinensis</i>	
	<i>S. oligofermentans</i>	veel species: klinische relevantie ?
	<i>S. massiliensis</i>	
	<i>S. tigurinus</i>	
	<i>S. lactarius</i>	
	<i>S. pseudopneumoniae</i>	onderscheid met <i>S. pneumoniae</i> van belang
		exacerbaties bij COPD en maagzwerd, zeldzame verwekker van endoftalmitis
	<i>S. orisratti</i>	\
	<i>S. oribeci</i>	\
	<i>S. sanguinis</i> *	Invasieve infecties: meningitis, bacteriëmie en bacteriëmie pneumokokken pneumonie Bacteriëmie, infectieuze endocarditis; associatie met colorectale carcinoma?
	<i>S. parasanguinis</i> *	Bacteriëmie, infectieuze endocarditis
	<i>S. gordonii</i> *	Septische artritis, infectieuze endocarditis, spontane bacteriële peritonitis en spondylodiscitis

→ identificatie tot op groep niveau aanvaardbaar

Legende:
[°] beperkte literatuur omtrent isolatie uit klinische stalen
 / klinisch niet relevant of klinische relevantie onduidelijk
 \ enkel geïsoleerd uit niet-humane stalen
 * voormalige *S. sanguinis* groep

Deel 2: MALDI-TOF identificatie viridans streptokokken

Fenotypische identificatie

Moleculaire identificatie: gen sequentieanalyse

MALDI-TOF MS

Opmerkingen

Streptococcus anginosus groep

Streptococcus bovis groep

Streptococcus salivarius groep

Streptococcus mutans groep

Streptococcus mitis groep

Besluit

Fenotypische identificatie

Fenotypische karakteristieken van de verschillende groepen viridans streptokokken

groep	hemolysepatroon	Lancefieldgroep	Biochemische reacties				
			arginine	GE	VP	sorbitol	mannitol
Bovis	α, γ	D, -	-	+	+	-	V
Anginosus	α, β, γ	A, C, F, G, -	+	+	+	-	V
Salivarius	α, β, γ	H, K, -	-	V	+	-	-
Mutans	$\alpha, (\beta), \gamma$	-	-	+	+	+	+
Mitis	α, γ	A, B, C, F, G, H, K, O, W, -	V	V	-	-	-

Legende: GE gal esculine, VP Voges-Proskauer of acetoïne, - negatieve reactie, + positieve reactie, V variabel reactiepatroon; *met uitzondering van *S. infantarius* subsp. *Infantarius*

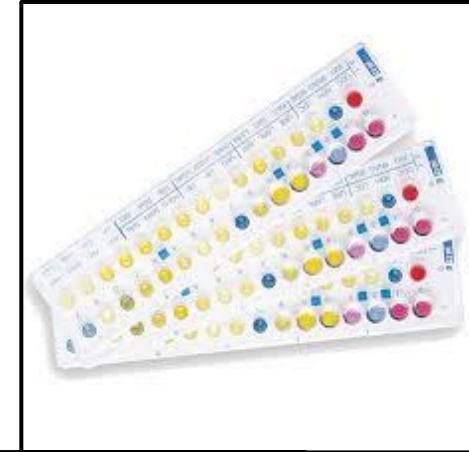
commerciële identificatiesystemen:

- API® 20 Strep
- VITEK® 2

→ Slechts 30-80% accurate diagnose viridans streptokokken op species niveau!

→ grote inter- en intraspecies variabiliteit bij viridans streptokokken!
(horizontale gentransfer en homologe recombinatie)

(- MALDI-TOF MS)



Moleculaire identificatie: gen sequentieanalyse

moleculaire identificatie van viridans streptokokken:

16S rRNA gen (RNA 30S subunit ribosoom):

mate fylogenetische verwantschap → taxonomische indeling

partieel vs. volledig

Cave: onderscheid tussen sommige nauw verwante *S. salivarius* groep en *S. mitis* groep species niet mogelijk

16S rRNA sequentie van *S. oralis* en *S. mitis* tot 99,9% identiek!

sodA gen (superoxide dismutase):

correcte identificatie viridans streptokokken in 95%

geen onderscheid mogelijk tussen *S. mitis* en *S. oralis*, én tussen *S. australis* en *S. infantis*

gyrB gen (subunit B van DNA gyrase):

wel onderscheid tussen *S. mitis* en *S. oralis* mogelijk

geen onderscheid tussen *S. mitis* en *S. (pseudo)pneumoniae*

andere huishoudgenen: ddl, tuf, recA, groESL, rpnB, rpoB ...

single gene vs. MLSA

(MLSA niet toepasbaar in routine)

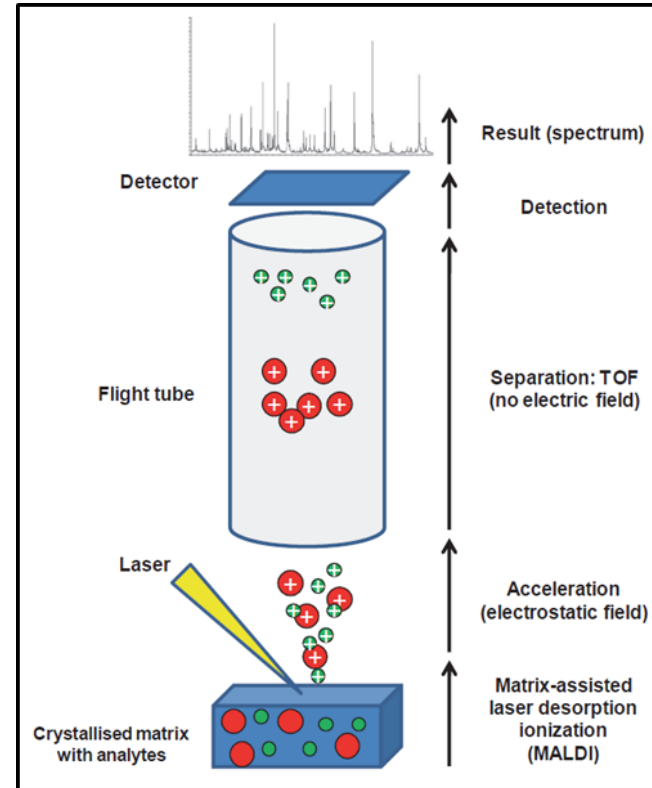
MALDI-TOF MS



MALDI Biotyper (Bruker)



VITEK MS (BioMérieux)



werkingsprincipe

MALDI-TOF MS: opmerkingen

- beperkte literatuur!
- geen gouden standaard → verschillende referentiemethoden
16S rRNA gen sequentieanalyse meest frequent gebruikt
cave *S. mitis* groep!
- verschillende versies softwarepakketten en databanken
recentere versies meer referentiespectra en in theorie dus beter
- recente wijzigingen in taxonomische indeling → verschillen in naamgeving, groepindeling
- verschillen in testomgeving → bijkomende variabiliteit
- rapporteren van 'slashline species'
bv. *S. mitis/oralis* bij VITEK MS
- UZ Leuven: MALDI Biotyper (Bruker) → focus
- resultaten in % overeenkomst t.o.v. gebruikte referentiemethode



MALDI-TOF MS: *Streptococcus anginosus* groep

Identificatie *S. anginosus* isolaten op species en groep niveau, MALDI Biotyper (Bruker)

Studie (jaar publicatie) [databank]	Referentiemethode (gen sequentieanalyse)	n (124)	species	% correcte identificatie	
				species	groep
López Roa, P (maart 2012) [<BDAL-5627*]	sodA gen	30	<i>S. anginosus</i> , <i>S. constellatus</i>	83,3	100
Davies, AP (september 2012) [<BDAL-5627*]	16S rRNA gen	2	<i>S. anginosus</i>	100	100
Kärpänoja, P (november 2013) [<BDAL-5627*]	16S rRNA	18	<i>S. anginosus</i> , <i>S. constellatus</i> , <i>S. intermedius</i>	77,8	100
Isaksson, J (december 2014) [BDAL-5627]	rpnB gen	7	<i>S. anginosus</i> , <i>S. constellatus</i> , <i>S. intermedius</i>	100	100
Angeletti, S (maart 2015) [BDAL-5627]	rpoB gen	15	<i>S. anginosus</i> , <i>S. constellatus</i> , <i>S. intermedius</i>	80	100
Zhou, M (augustus 2016) [BDAL-5989]	gyrB gen + 16S rRNA gen	52	<i>S. anginosus</i> , <i>S. constellatus</i> , <i>S. intermedius</i>	100	100
gemiddelde				90,3	100

S. intermedius slecht beperkt aantal referentiespectra in databanken <BDAL-5989

* versie voor BDAL-5627, referentiedatabank niet beschreven

MALDI-TOF MS: *Streptococcus anginosus* groep

Identificatie *S. anginosus* isolaten op species en groep niveau, VITEK MS (BioMérieux)

Studie (jaar publicatie) [databank]	Referentiemethode (gen sequentieanalyse)	n (92)	species	% correcte identificatie	
				species	groep
Kärpänoja, P (november 2013) [VITEK MS Plus]	16S rRNA	18	<i>S. anginosus</i> , <i>S. constellatus</i> , <i>S. intermedius</i>	100	100
Isaksson, J (december 2014) [VITEK MS IVD V2]	rpnB gen	7	<i>S. anginosus</i> , <i>S. constellatus</i> , <i>S. intermedius</i>	100	100
Angeletti, S (maart 2015) [VITEK MS IVD V2]	rpoB gen	15	<i>S. anginosus</i> , <i>S. constellatus</i> , <i>S. intermedius</i>	80	100
Zhou, M (augustus 2016) [VITEK MS Plus]	gyrB gen + 16S rRNA gen	52	<i>S. anginosus</i> , <i>S. constellatus</i> , <i>S. intermedius</i>	100	100
gemiddelde				96,7	100

MALDI-TOF MS: *Streptococcus bovis* groep

Identificatie *S. bovis* isolaten op subspecies, species en groep niveau, MALDI Biotyper (Bruker)

Studie (jaar publicatie) [databank]	Referentiemethode (gen sequentieanalyse)	n (89)	species	% correcte identificatie		
				subspecies	species	groep
López Roa, P (maart 2012) [<BDAL-5627*]	sodA gen	27	<i>S. equinus</i> , <i>S. gallolyticus</i> ssp. <i>gallolyticus</i> , <i>S. gallolyticus</i> ssp. <i>pasteurianus</i> , <i>S. infantarius</i> ssp. <i>coli</i> , <i>S. infantarius</i> ssp. <i>infantarius</i>	66,7	66,7	100
Davies, AP (september 2012) [<BDAL-5627*]	16S rRNA gen	2	<i>S. infantarius</i> ssp. <i>coli</i>	100	100	100
Kärpänoja, P (november 2013) [<BDAL-5627*]	16S rRNA gen	3	<i>S. gallolyticus</i> ssp. <i>gallolyticus</i> , <i>S. gallolyticus</i> ssp. <i>pasteurianus</i>	100	100	100
Angeletti, S (maart 2015) [BDAL-5627]	rpoB gen	13	<i>S. gallolyticus</i> ssp. <i>gallolyticus</i> , <i>S. gallolyticus</i> ssp. <i>pasteurianus</i> , <i>S. infantarius</i> ssp. <i>coli</i>	61,5	100	100
Zhou, M (augustus 2016) [BDAL-5989]	gyrB gen + 16S rRNA gen	8	<i>S. gallolyticus</i> , <i>S. infantarius</i> ssp. <i>coli</i>	100	100	100
Ben-Chetrit, E (oktober 2016) [BDAL-5989]	16 S rRNA gen	36	<i>S. gallolyticus</i> ssp. <i>gallolyticus</i> , <i>S. gallolyticus</i> ssp. <i>pasteurianus</i> , <i>S. gallolyticus</i> ssp. <i>macedonicus</i> , <i>S. infantarius</i> ssp. <i>coli</i>	83.3	100	100
gemiddelde				77.5	86.0	100

* versie voor BDAL-5627, exacte versie niet expliciet vermeld

BDAL-5627: slechts één *S. gallolyticus* ssp. *gallolyticus* referentie massaspectrum

MALDI-TOF MS: *Streptococcus bovis* groep

Identificatie *S. bovis* isolaten op subspecies, species en groep niveau, VITEK MS (BioMérieux)

Studie (jaar publicatie) [databank]	Referentiemethode (gen sequentieanalyse)	n (66)	species	% correcte identificatie		
				subspecies	species	groep
Kärpänäoja, P (november 2013) [VITEK MS Plus]	16S rRNA gen	3	<i>S. gallolyticus</i> ssp. <i>gallolyticus</i> , <i>S. gallolyticus</i> ssp. <i>pasteurianus</i>	66.7	66.7	100
Isaksson, J (december 2014) [VITEK MS IVD V2]	rpnB gen	7	<i>S. gallolyticus</i> ssp. <i>gallolyticus</i> , <i>S. gallolyticus</i> ssp. <i>pasteurianus</i>	100	100	100
Angeletti, S (maart 2015) [VITEK MS IVD V2]	rpoB gen	13	<i>S. gallolyticus</i> ssp. <i>gallolyticus</i> , <i>S. gallolyticus</i> ssp. <i>pasteurianus</i> , <i>S. infantarius</i> ssp. <i>coli</i>	100	100	100
Zhou, M (augustus 2016) [VITEK MS Plus]	gyrB gen + 16S rRNA gen	8	<i>S. gallolyticus</i> , <i>S. infantarius</i> ssp. <i>coli</i>	87.5	87.5	100
Ben-Chetrit, E (oktober 2016) [VITEK MS IVD*]	16 S rRNA gen	35	<i>S. gallolyticus</i> ssp. <i>gallolyticus</i> , <i>S. gallolyticus</i> ssp. <i>pasteurianus</i> , <i>S. infantarius</i> ssp. <i>coli</i>	86.8	100	100
gemiddelde				84.5	90.2	100

* versie databank niet expliciet vermeld

MALDI-TOF MS: *Streptococcus salivarius* groep

Identificatie *S. salivarius* isolaten op species en groep niveau, MALDI Biotyper (Bruker)

Studie (jaar publicatie) [databank]	Referentiemethode (gen sequentieanalyse)	n (17)	species	% correcte identificatie species groep	
López Roa, P (maart 2012) [<BDAL-5627*]	sodA gen	9	<i>S. salivarius</i> , <i>S. vestibularis</i>	77,8	77,8
Davies, AP (september 2012) [<BDAL-5627*]	16S rRNA gen	1	<i>S. salivarius</i>	100	100
Angeletti, S (maart 2015) [BDAL-5627]	rpoB gen	5	<i>S. salivarius</i> , <i>S. vestibularis</i> , <i>S. thermophilus</i>	40	100
Zhou, M (augustus 2016) [BDAL-5989]	gyrB gen + 16S rRNA gen	2	<i>S. salivarius</i>	100	100
gemiddelde				70,6	88,2

- zéér beperkt aantal species
- *S. vestibularis*: slechts beperkt aantal massaspectra in oude databanken

* versie voor BDAL-5627, referentiedatabank niet beschreven

Identificatie *S. salivarius* isolaten op species en groep niveau, VITEK MS (BioMérieux)

Studie (jaar publicatie) [databank]	Referentiemethode (gen sequentieanalyse)	n (7)	species	% correcte identificatie species groep	
Angeletti, S (maart 2015) [VITEK MS IVD V2]	rpoB gen	5	<i>S. salivarius</i> , <i>S. vestibularis</i> , <i>S. thermophilus</i>	40	100
Zhou, M (augustus 2016) [VITEK MS Plus]	gyrB gen + 16S rRNA gen	2	<i>S. salivarius</i>	100	100
gemiddelde				57,1	100

MALDI-TOF MS: *Streptococcus mutans* groep

Identificatie *S. mutans* isolaten op species en groep niveau, MALDI Biotyper (Bruker)

Studie (jaar publicatie) [databank]	Referentiemethode (gen sequentieanalyse)	n (7)	species	% correcte identificatie	
				species	groep
López Roa, P (maart 2012) [<BDAL-5627*]	sodA gen	1	<i>S. mutans</i>	100	100
Davies, AP (september 2012) [<BDAL-5627*]	16S rRNA gen	1	<i>S. mutans</i>	100	100
Isaksson, J (december 2014) [BDAL-5627]	rpnB gen	4	<i>S. mutans</i>	100	100
Angeletti, S (maart 2015) [BDAL-5627]	rpoB gen	1	<i>S. mutans</i>	100	100
gemiddelde				100,0	100,0

* versie voor BDAL-5627, referentiedatabank niet beschreven

- zéér beperkt aantal species
- enkel *S. mutans* bestudeerd
- MALDI Biotyper BDAL-7311:
tevens *S. sobrinus*, *S. downei*, *S. criceti* en *S. rattii*

Identificatie *S. mutans* isolaten op species en groep niveau, VITEK MS (BioMérieux)

Studie (jaar publicatie) [databank]	Referentiemethode (gen sequentieanalyse)	n (5)	species	% correcte identificatie	
				species	groep
Isaksson, J (december 2014) [VITEK MS IVD V2]	rpnB gen	4	<i>S. mutans</i>	100	100
Angeletti, S (maart 2015) [VITEK MS IVD V2]	rpoB gen	1	<i>S. mutans</i>	100	100
gemiddelde				100,0	100

MALDI-TOF MS: *Streptococcus mitis* groep

Opmerkingen:

- voormalige *S. sanguinis* groep nog apart beschreven
- via gekozen referentiemethode geen correcte ID op species niveau → species geëxcludeerd
- species niet in referentiedatabank → species geëxcludeerd
- VITEK MS: 'slashline species' *Streptococcus mitis/oralis* geëxcludeerd
- aantal correct geïdentificeerde niet-pneumokokken SMG species

MALDI-TOF MS: *Streptococcus mitis* groep

Identificatie *S. mitis* isolaten (zonder voormalige *S. sanguinis* groep en *S. pneumoniae*) op species en groep niveau, MALDI Biotyper (Bruker)

Studie (jaar publicatie) [databank]	Referentiemethode (gen sequentieanalyse)	n (170)	species	% correcte identificatie		
				species	groep	
López Roa, P (maart 2012) [<BDAL-5627*]	sodA gen	38	<i>S. mitis</i> , <i>S. oralis</i> , <i>S. cristatus</i> , <i>S. infantis</i>	55,2	92,1	6 <i>S. mitis</i> en 8 <i>S. oralis</i> species foutief geantwoord als <i>S. pneumoniae</i>
Davies, AP (september 2012) [<BDAL-5627*]	16S rRNA gen	28	<i>S. mitis</i> , <i>S. oralis</i> , <i>S. infantis</i>	14,3	64,3	alle 20 <i>S. mitis</i> isolaten foutief geantwoord als <i>S. oralis</i> en <i>S. pneumoniae</i> , tevens probleem voor <i>S. oralis</i>
Kärpänoja, P (november 2013) [<BDAL-5627*]	16S rRNA gen	5	<i>S. mitis</i> , <i>S. oralis</i>	0	100	foutief geïdentificeerd als <i>S. pneumoniae</i>
Isaksson, J (december 2014) [BDAL-5627]	rpnB gen	4	<i>S. australis</i> , <i>S. cristatus</i>	100	100	
Angeletti, S (maart 2015) [BDAL-5627]	rpoB gen	73	<i>S. pseudopneumoniae</i> , <i>S. mitis</i> , <i>S. oralis</i> , <i>S. australis</i> , <i>S. cristatus</i> , <i>S. infantis</i>	50,7	100	helft <i>S. mitis</i> species geantwoord als <i>S. pneumoniae</i> + onvermogen <i>S. cristatus</i> en <i>S. pseudopneumoniae</i> te identificeren
Zhou, M (augustus 2016) [BDAL-5989]	gyrB gen + 16S rRNA gen	22	<i>S. pseudopneumoniae</i> , <i>S. mitis</i> , <i>S. oralis</i>	4,5	100	misidentificatie van 21/22 als <i>S. pneumoniae</i>
gemiddelde				39,4	91,5	

* versie voor BDAL-5627, referentiedatabank niet beschreven

slechte score op species niveau voornamelijk te wijten aan foutief rapporteren *S. mitis/oralis* isolaten als *S. pneumoniae*

MALDI-TOF MS: *Streptococcus mitis* groep

Identificatie isolaten voormalige *S. sanguinis* groep op species en groep niveau, MALDI Biotyper (Bruker)

Studie (jaar publicatie) [databank]	Referentiemethode (gen sequentieanalyse)	n (85)	species	% correcte identificatie	
				species	groep
López Roa, P (maart 2012) [<BDAL-5627*]	sodA gen	19	<i>S. sanguinis</i> , <i>S. parasanguinis</i> , <i>S. gordonii</i>	100	100
Davies, AP (september 2012) [<BDAL-5627*]	16S rRNA gen	11	<i>S. sanguinis</i> , <i>S. parasanguinis</i> , <i>S. gordonii</i>	90,9	90,9
Kärpänoja, P (november 2013) [<BDAL-5627*]	16S rRNA gen	10	<i>S. gordonii</i> , <i>S. sanguinis</i>	100	100
Isaksson, J (december 2014) [BDAL-5627]	rpnB gen	18	<i>S. sanguinis</i> , <i>S. parasanguinis</i> , <i>S. gordonii</i>	100	100
Angeletti, S (maart 2015) [BDAL-5627]	rpoB gen	15	<i>S. sanguinis</i> , <i>S. parasanguinis</i> , <i>S. gordonii</i>	93,3	100
Zhou, M (augustus 2016) [BDAL-5989]	gyrB gen + 16S rRNA gen	12	<i>S. gordonii</i> , <i>S. sanguinis</i>	100	100
gemiddelde				97,6	98,8

1 *S. parasanguinis* isolaat niet/foutief geïdentificeerd

* versie voor BDAL-5627, referentiedatabank niet beschreven

MALDI-TOF MS: *Streptococcus mitis* groep

Identificatie *S. mitis* isolaten (zonder voormalige *S. sanguinis* groep, *S. pneumoniae* en 'slashline species' *S. mitis/oralis* op species en groep niveau, VITEK MS (BioMérieux)

Studie (jaar publicatie) [databank]	Referentiemethode (gen sequentieanalyse)	n (35)	species	% correcte identificatie	
				species	groep
Isaksson, J (december 2014) [VITEK MS IVD V2]	rpnB gen	2	<i>S. cristatus</i>	100	100
Angeletti, S (maart 2015) [VITEK MS IVD V2]	rpoB gen	24	<i>S. cristatus</i> , <i>S. pseudopneumoniae</i> , <i>S. infantis</i>	8,3	100
Zhou, M (augustus 2016) [VITEK MS Plus]	gyrB gen + 16S rRNA gen	9	<i>S. pseudopneumoniae</i>	88,9	100
gemiddelde				34,3	100

Misidentificatie 15/17 *S. pseudopneumoniae* als *S. mitis/oralis* en onvermogen *S. cristatus* en *S. infantis* te identificeren

8/9 *S. pseudopneumoniae* correct geïdentificeerd

Identificatie isolaten voormalige *S. sanguinis* groep op species en groep niveau, VITEK MS (BioMérieux)

Studie (jaar publicatie) [databank]	Referentiemethode (gen sequentieanalyse)	n (55)	species	% correcte identificatie	
				species	groep
Kärpänöja, P (november 2013) [VITEK MS Plus]	16S rRNA gen	10	<i>S. gordonii</i> , <i>S. sanguinis</i>	100	100
Isaksson, J (december 2014) [VITEK MS IVD V2]	rpnB gen	18	<i>S. sanguinis</i> , <i>S. parasanguinis</i> , <i>S. gordonii</i>	100	100
Angeletti, S (maart 2015) [VITEK MS IVD V2]	rpoB gen	15	<i>S. sanguinis</i> , <i>S. parasanguinis</i> , <i>S. gordonii</i>	100	100
Zhou, M (augustus 2016) [VITEK MS Plus]	gyrB gen + 16S rRNA gen	12	<i>S. gordonii</i> , <i>S. sanguinis</i>	100	100
gemiddelde				100,0	100

MALDI-TOF MS: *Streptococcus mitis* groep

Vergelijking MALDI Biotyper (Bruker) versus VITEK MS (BioMérieux) voor identificatie *S. mitis* groep isolaten (zonder *S. pneumoniae*) op species en groep niveau

methode (firma)	n	% correcte identificatie	
		species	groep
MALDI Biotyper (Bruker)	255	58.8	98.5
VITEK MS (BioMérieux)	80	83.7	100

correcte identificatie op groep niveau is mogelijk met beide MALDI-TOF MS systemen (voor MALDI Biotyper vanaf BDAL-5627 referentie databank)

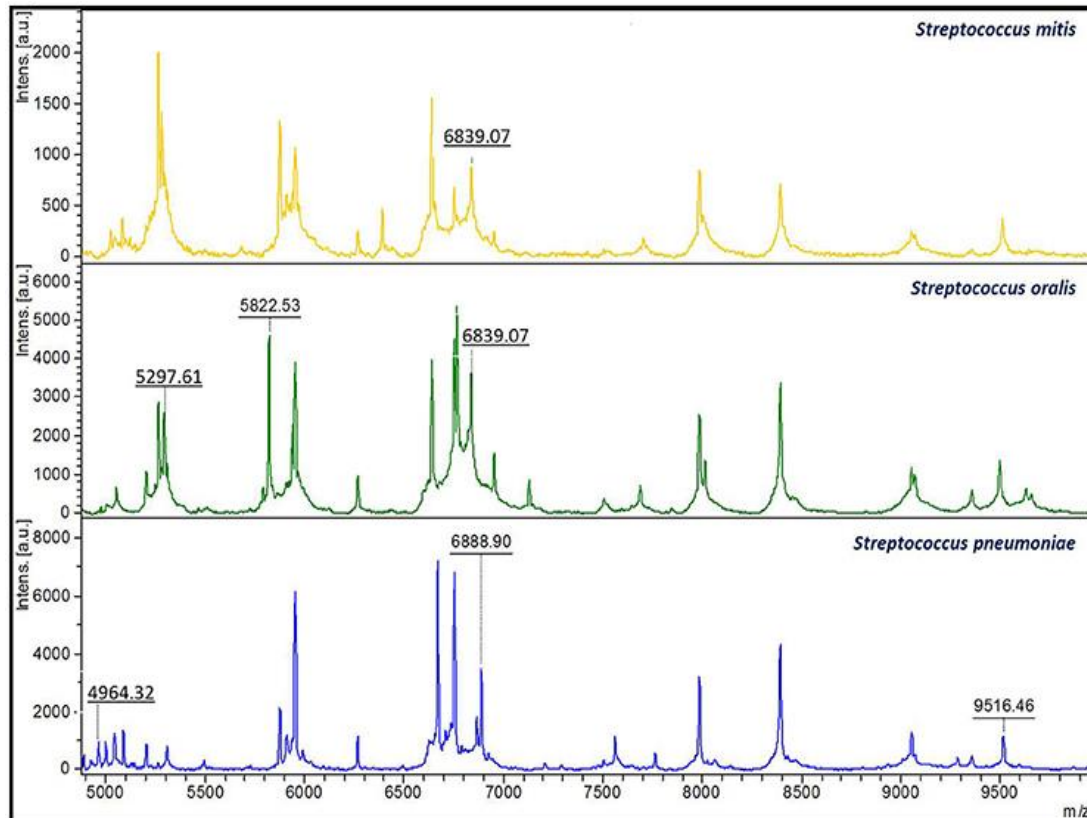
slechte score MALDI Biotyper op species niveau gevolg van foutief rapporteren *S. mitis* en *S. oralis* als *S. pneumoniae*

noodzaak aan betere differentiatie tussen *S. pneumoniae* en andere *S. mitis* groep isolaten!

MALDI-TOF MS: *Streptococcus mitis* groep

Massaspectra van de nauwverwante *S. mitis*, *S. oralis* en *S. pneumoniae*

afbeelding overgenomen uit "Accurate differentiation of *Streptococcus pneumoniae* from other species within the *Streptococcus mitis* group by peak analysis using MALDI-TOF MS", by Marin M et al., 2017, Front Microbiol, 8, p. 5.



foutief rapporteren *S. mitis* en *S. oralis* als *S. pneumoniae*
= gevolg van hun zeer gelijkaardige massaspectra

MALDI-TOF MS: *Streptococcus mitis* groep

Oplossingen?

→ ontwikkeling algoritme voor differentiatie

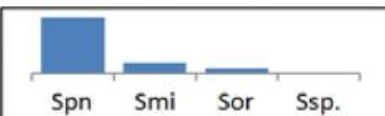
Algoritme voor correcte differentiatie tussen de nauwverwante *S. mitis*, *S. oralis* en *S. pneumoniae*

afbeelding overgenomen uit "Improved differentiation of *Streptococcus pneumoniae* and other *S. mitis* group Streptococci by MALDI Biotyper using an improved MALDI Biotyper database content and a novel result interpretation algorithm", by Harju I et al., 2017, J Clin Microbiol, 55(3), p.919.

log(score)										
strain # xyz	Ranking List Position									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>S.pneumoniae</i>	2.42	2.36	2.36	2.36		2.32		2.30		2.28
<i>S.mitis</i>					2.35				2.30	
<i>S.oralis</i>							2.32			

"weighted log(score)"											
strain # xyz	Ranking List Position x Multiplier										list(score)
	1 x 10	2 x 9	3 x 8	4 x 7	5 x 6	6 x 5	7 x 4	8 x 3	9 x 2	10 x 1	
<i>S.pneumoniae</i>	24.2	21.2	18.9	16.5		11.6		6.9		2.3	101.6
<i>S.mitis</i>					14.1				4.6		18.7
<i>S.oralis</i>							9.3				9.3

Spn	Smi	Sor	Ssp.
101.6	18.7	9.3	



→ uitbreiden referentiedatabank met extra MSP's voor *S. mitis*, *S. oralis* en *S. pneumoniae*

Márin M et al., 2017, Front Microbiol:

100% correcte differentiatie tussen *S. pneumoniae* en andere *S. mits* groep isolaten mogelijk met gebruik BDAL-6903

MALDI-TOF MS: besluit

Identificatie VGS met MALDI Biotyper (Bruker)

groep	n (475)	% correcte identificatie	
		species	groep
<i>S. bovis</i> groep	89	86,0	100
<i>S. anginosus</i> groep	124	90,3	100
<i>S. salivarius</i> groep	17	70,6	88,2
<i>S. mutans</i> groep	7	100	100
<i>S. mitis</i> groep*	255	58,8	98,5
gemiddelde		72,7	98,8

*zonder *S. pneumoniae*

MALDI Biotyper:

- correcte identificatie tot op groep niveau vanaf gebruik BDAL-5627
- correcte differentiatie tussen *S. pneumoniae* en andere *S. mitis* isolaten vanaf gebruik BDAL-6903?
→ voorlopig nog controle met optochine

≠ ?

Identificatie VGS met VITEK MS (BioMérieux)

groep	n (250)	% correcte identificatie	
		species	groep
<i>S. bovis</i> groep	66	90,2	100
<i>S. anginosus</i> groep	92	96,7	100
<i>S. salivarius</i> groep	7	57,1	100
<i>S. mutans</i> groep	5	100	100
<i>S. mitis</i> groep*	80	82,5	100
gemiddelde		89,8	100,0

*zonder *S. pneumoniae*

VITEK MS:

- correcte identificatie tot op groep niveau mogelijk ongeacht versie gebruikte databank

MALDI-TOF MS: besluit

MALDI Biotyper (Bruker)

patroonherkenning:

- één consensuspectra per species
- berekend uit meerdere spectra
- score o.b.v. overeenstemming

Minder goed om nauw verwante species te differentiëren?

VITEK MS (BioMérieux)

geavanceerde spectrum classificatie (ASC):

- data binning
- individuele piekanalyse
- bin-wegingsproces

Beter om soort specifieke pieken te detecteren

Betere resultaten nauw verwante species?

Conclusie CAT

Indeling viridans streptokokken in 5 grote groepen:

1. *Streptococcus anginosus* groep;
2. *Streptococcus bovis* groep;
3. *Streptococcus salivarius* groep;
4. *Streptococcus mutans* groep;
5. *Streptococcus mitis* groep (die ook de *S. sanguinis* groep en *S. pneumoniae/pseudopneumoniae* bevat).

Vanuit klinisch standpunt volstaat identificatie tot op groep niveau

Cave *S. bovis* groep en endocarditis/gastro-intestinale neoplasie

Cave *S. anginosus* groep en abcesvorming

S. mitis groep: differentiatie *S. pneumoniae* en niet *S. pneumoniae* isolaten!

MALDI Biotyper (\geq BDAL-5627)

correcte identificatie tot op groep niveau mogelijk

differentiatie *S. pneumoniae* en andere *S. mitis* isolaten veelbelovend (vanaf BDAL-6903)

→ voorlopig nog met optochine

→ rapportage viridans streptokokken op groep niveau

To do

- Aanpassen SOP's op bacteriologie
- Aanpassen MALDI-TOF/LIS-koppeling

Vragen?

