

The optimization and validation of the Biotyper MALDI-TOF MS database for the identification of Gram-positive anaerobic cocci.

Veloo ACM et al., Clin Microbiol Infect 2016, 06.016. [Epub ahead of print].

Hintergrund

- Die Einführung von MALDI TOF MS führte zu einer grundlegenden Verbesserung der Isolatidentifikation bezüglich Geschwindigkeit und Verlässlichkeit. Auch bei Anaerobiern hat sich MALDI TOF MS als Routineidentifikation etabliert.
- Die beiden Hauptgruppen klinisch relevanter anaerober Bakterien sind die *Bacteroides fragilis* Gruppe (ca. 40%) und die Gram-positiven Kokken (AGPK) (ca 28%). Letztere sind bisher nur partiell für den Einsatz mit MALDI TOF validiert worden. Entsprechend fehlt die Datenbasis mit guten Massenspektren und neue Spezies fehlen in der aktuellen Datenbank.
- **Ziel der Studie:** 1. Vervollständigung der Datenbank durch weitere AGPK und 2. Validierung der erneuerten Datenbasis mit einer grossen Anzahl klinischer Isolate.

Material und Methoden

- 108 Referenz AGPK, klinische Isolate der ENRIA Gruppe, wurden nach Vollextraktion mit MALDI TOF MS analysiert und die Massenspektren (MSP) erstellt.
- Validierung der Datenbank mit 140 AGPK aus der Routine, die mit 16S rRNA Gensequenzierung vorgängig identifiziert wurden. Identifikation auf Speziesebene bei $\geq 98.7\%$ Similarität.
- MALDI TOF MS Analyse unter Verwendung von 1. nur Matrixlösung, 2. Schnellextraktion mit Ameisensäure mit dem Gerät Microflex und der Software Biotyper 3.0 von Bruker Daltonik. Vergleich der Resultate mit der alten und der vervollständigten Datenbank. Interpretation der log Scores: ≥ 2.0 entspricht verlässliche Identifikation, $>1.7 - <2.0$ entspricht Identifikation unsicher, ≤ 1.7 entspricht nicht verlässlich.

Resultate

- Optimierung der Datenbank mit den Daten der 108 Bakterienstämmen. Siehe Tabelle 1, sowie Abbildung 1 und 2 mit der Darstellung der Dendrogramme.
 - Validierung der verbesserten Datenbank dargestellt in Tabelle 2. Erhöhung der Identifikationsrate bei Score ≥ 2.0 von 53.6% zu 82.1%.
 - *Anaerococcus obesiensis* konnte mit der neuen Datenbank nicht und *A. hydrogenalis* nur mit einem schlechten Score identifiziert werden .
- 9 Isolate nicht identifizierbar mit 16S rRNA Analyse: 4 Isolate nicht auf Speziesebene identifizierbar ergaben bei 2 Stämmen Score ≥ 2.0 : *Anaerococcus murdochii* und *Anaerococcus vaginalis*. 5 Isolate zeigten in der 16S rRNA Analyse eine Similaritätsrate $<98.7\%$, all diese Keime konnten mit MALDI TOF MS nicht identifiziert werden. Dabei handelt es sich wahrscheinlich um neue Spezies.

Diskussion

- Der Grund, dass MALDI TOF MS bei 2 Spezies versagte, dürfte bei der beschränkten Anzahl der MSPs liegen.
- In der neuen Datenbank sind nun 33 AGPK Spezies verzeichnet, aber immer noch 18 Spezies mit <5 MSP.
- Wie in anderen Studien waren die MSPs der Typstämme oft unterschiedlich zu den MSPs der klinischen Isolate.
- Konklusion: Die erweiterte Datenbank erlaubt eine verbesserte Identifikation von medizinisch relevanten AGPK bis auf Speziesebene. Gerade bei Spezies, die eine hohe Intraspeziesvariabilität haben, ist dies sehr hilfreich.

Bemerkungen

- Studie für uns wichtig, da wir die Datenbank nicht mit eigenen Datensets vervollständigen können.
- Erweiterung der Datenbank von nicht korrekt beschriebenen Spezies (n=8) problematisch.