

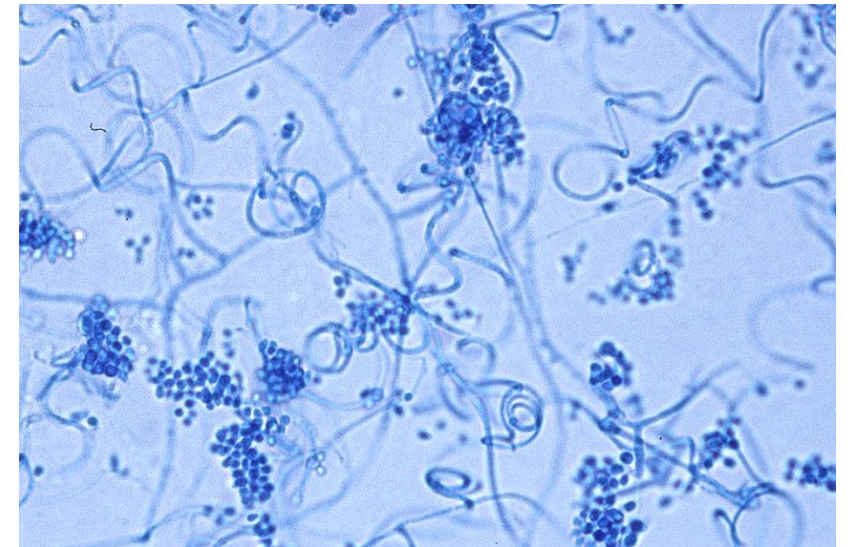


## MALDI-TOF in der Mykologie

Erste Erfahrungen mit der MSI-Datenbank

Peter Kutzer

- **konventionelle Diagnostik (Phänotypie)**
  - erfordert erfahrenes Personal
  - ist zeitaufwändig (Ausbildung „charakteristischer“ morphologischer Strukturen)
  - **unsichere Identifizierung** (subjektiver Faktor, Taxonomie im Fluss, kryptische Spezies)

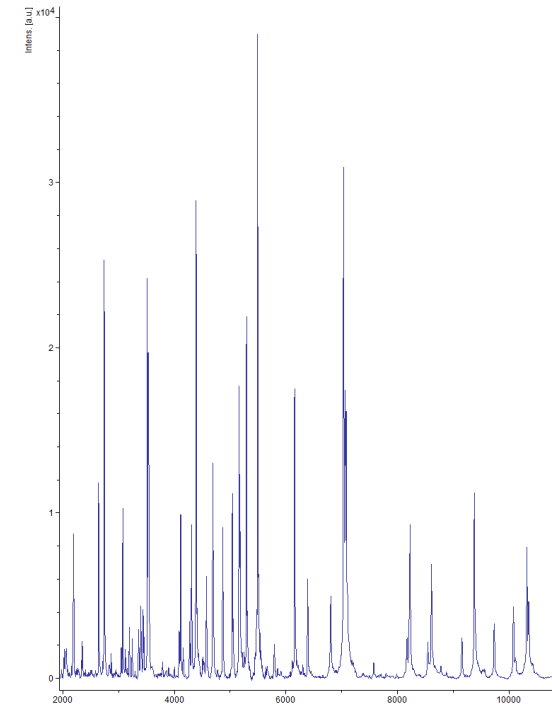


- **molekularbiologische Diagnostik (Sequenzierung)**
  - aufwändig und teuer
  - schwierig in Laborroutine zu integrieren
  - **sichere Identifizierung** (Goldstandard)

Sequence-based Strain Identification Report					
Sequence date	23.04.2021	Patient ID	01UD338, 02UD51,	Sample no.	04UVF14
Sample date	23.04.2021	Sender	Dr. Kutzer/LBB	Above Line Header Comment	
<b>Result</b>					
<b>Final identification:</b>		<b>Trichophyton benhamiae, weiss</b>			
Closest reference found:		Trichophyton benhamiae Z98016 605 (99.8%)			

## ➤ MALDI-TOF MS

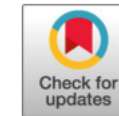
- weitgehend etabliert für Hefen
- kommerzielle Datenbanken für Fadenpilze
  - wenig umfangreich (Bruker MBT FFL 4: 247 Spezies/Spezies-Komplexe, Referenzspektren basieren auf Flüssigkulturen)
  - z. T. aufwändige Präparation (über Flüssigkultur)
- Alternativen
  - in-house Datenbanken --> i. d. R. nicht leistbar
  - **Web-basierte Anwendungen --> MSI Applikation**






Journal of  
Clinical Microbiology®

MYCOLOGY



## Validation of a New Web Application for Identification of Fungi by Use of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry

A. C. Normand,<sup>a</sup> P. Becker,<sup>b</sup> F. Gabriel,<sup>c</sup> C. Cassagne,<sup>a</sup> I. Accoceberry,<sup>c</sup>  
M. Gari-Toussaint,<sup>d</sup> L. Hasseine,<sup>d</sup> D. De Geyter,<sup>e</sup> D. Pierard,<sup>e</sup> I. Surmont,<sup>f</sup>  
F. Djenad,<sup>a</sup> J. L. Donnadieu,<sup>g</sup> M. Piarroux,<sup>h</sup>  S. Ranque,<sup>a</sup> M. Hendrickx,<sup>b</sup>  
R. Piarroux<sup>a</sup>

Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHU Timone, Aix-Marseille Université, Marseille, France<sup>a</sup>; Service of Mycology and Aerobiology, BCCM/IHEM Fungal Collection, Scientific Institute of Public Health, Brussels, Belgium<sup>b</sup>; Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux, Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Bordeaux, France<sup>c</sup>; Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHU l'Archet 2, Nice, France<sup>d</sup>; Department Microbiology and Infection Control, Universitair Ziekenhuis Brussel, Vrije Universiteit Brussel, Brussels, Belgium<sup>e</sup>; Department of Microbiology, AZ Sint Jan, Bruges-Oostende, Belgium<sup>f</sup>; Passerelle, Montpellier, France<sup>g</sup>; Centre d'Epidémiologie et de Santé Publique des Armées, Marseille, France<sup>h</sup>

# MSI V2.0 Applikation (setup 2019): <https://msi.happy-dev.fr/>

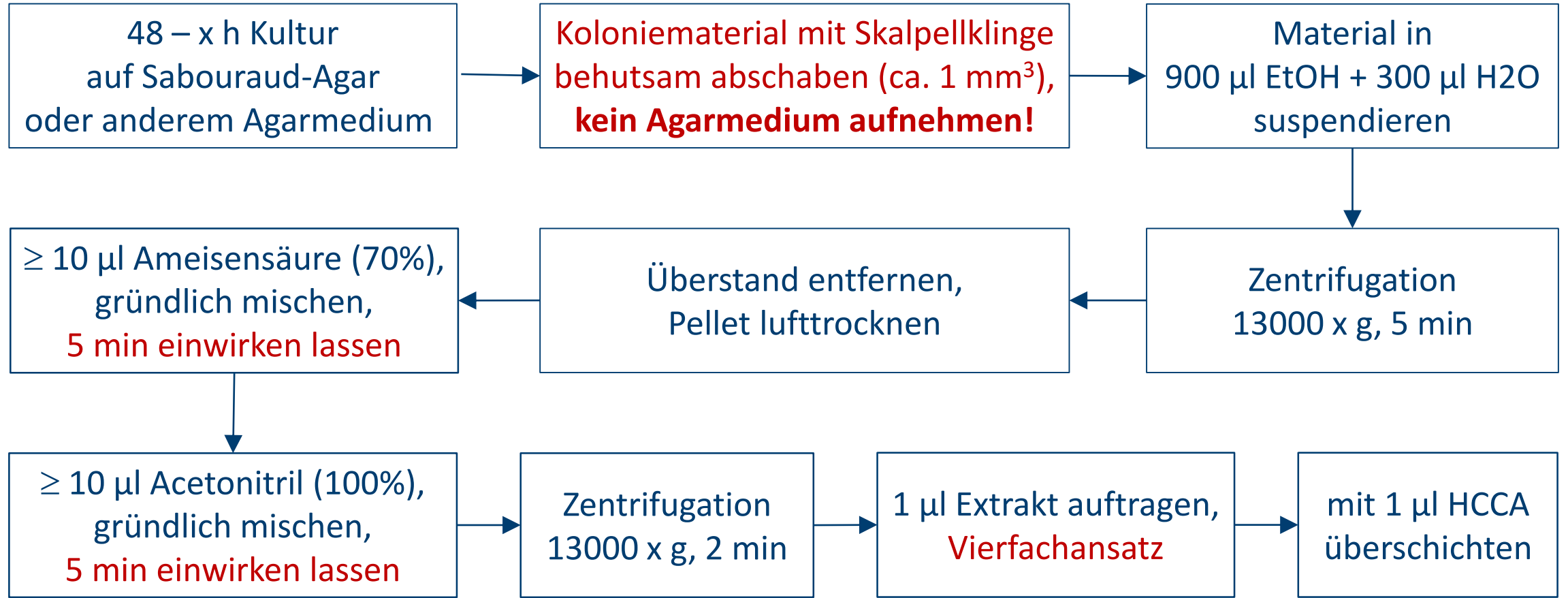
- Plattform entwickelt von Sorbonne Universität, Paris
- Datenbank kuratiert in Kooperation mit Sciensano, Brüssel (BCCM/IHEM Sammlung)
- weltweit umfangreichste Pilz-Datenbank: **1.582 Spezies; 16.446 Referenzspektren**
- in mehreren Vergleichsstudien beste Performance (Stein et al., 2018; Becker et al., 2019; Dupont et al, 2019; Heireman et al. 2020; Normand et al. 2021; Robert et al. 2021)
- **nach Registrierung frei zugänglich**

## Welcome to MSI Platforme

MSI provides you the opportunity to experiment new ways of identifying mass spectra

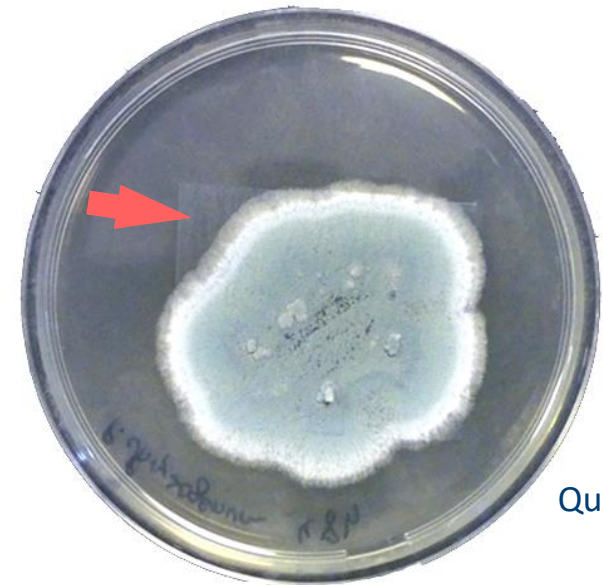
This software was developed in collaboration by Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Sorbonne University, and the BCCM/IHEM/Sciensano collection in Brussels, follow the links for more informations:

# MSI V2.0 Applikation: Präparation (Extraktion)



## ➤ Praxis-Tipp

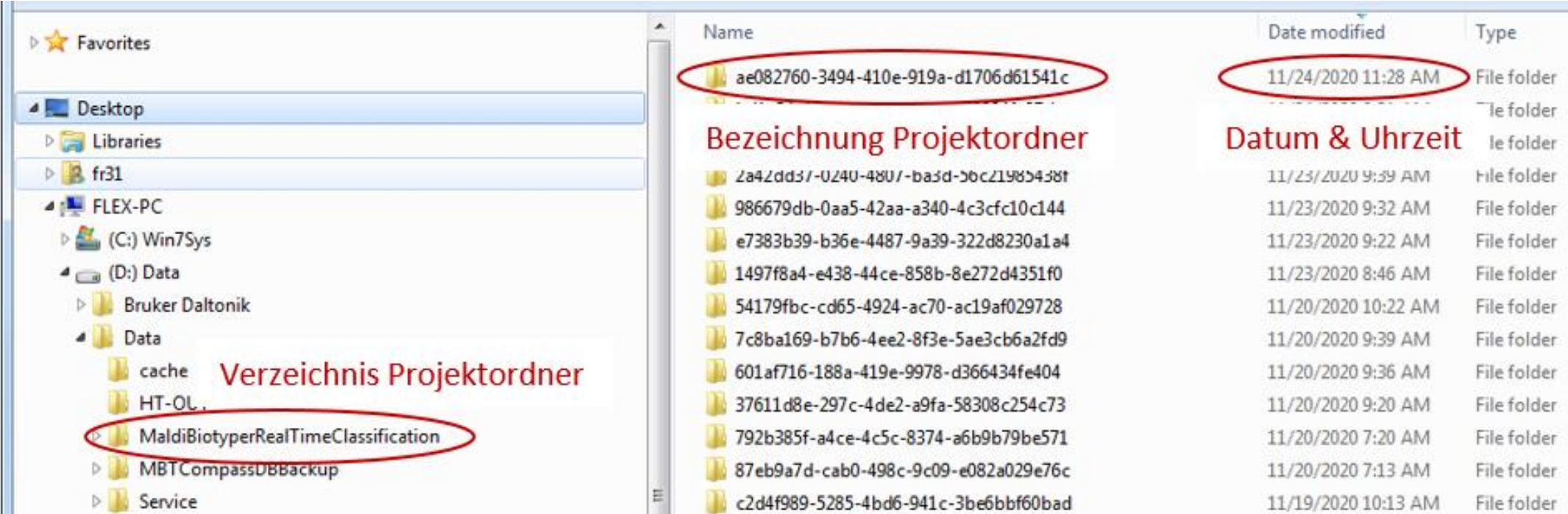
- alternatives Agarmedium: **Id Fungi Plates™** (Fa. Conidia, France)
- ID-Fp: mit Chloramphenicol; ID-Fp+: mit Chloramphenicol und Cycloheximid
- **Polyolefin Membran auf Agaroberfläche**
- Pilzwachstum auf Membran, dadurch vereinfachte Materialgewinnung für MALDI-TOF
- Einsatz für Primär- und Subkultur
- Studien weisen auf bessere Identifizierungsquote hin (Heireman et al., 2020; Cardot Martin et al., 2021)



Quelle: conidia.fr



- Messung Bruker MBT gem. Standardprozedur
- **Praxis-Tipp: Proben für MSI separat präparieren und messen**
- generierten Projektordner im Verzeichnis **D/Data/MaldiBiotyperRealTimeClassification** markieren



Verzeichnis Projektordner

Name	Date modified	Type
ae082760-3494-410e-919a-d1706d61541c	11/24/2020 11:28 AM	File folder
2a42dd31-0240-4801-ba3d-5b6c21985438f	11/23/2020 9:39 AM	File folder
986679db-0aa5-42aa-a340-4c3cfc10c144	11/23/2020 9:32 AM	File folder
e7383b39-b36e-4487-9a39-322d8230a1a4	11/23/2020 9:22 AM	File folder
1497f8a4-e438-44ce-858b-8e272d4351f0	11/23/2020 8:46 AM	File folder
54179fbc-cd65-4924-ac70-ac19af029728	11/20/2020 10:22 AM	File folder
7c8ba169-b7b6-4ee2-8f3e-5ae3cb6a2fd9	11/20/2020 9:39 AM	File folder
601af716-188a-419e-9978-d366434fe404	11/20/2020 9:36 AM	File folder
37611d8e-297c-4de2-a9fa-58308c254c73	11/20/2020 9:20 AM	File folder
792b385f-a4ce-4c5c-8374-a6b9b79be571	11/20/2020 7:20 AM	File folder
87eb9a7d-cab0-498c-9c09-e082a029e76c	11/20/2020 7:13 AM	File folder
c2d4f989-5285-4bd6-941c-3be6bbf60bad	11/19/2020 10:13 AM	File folder

- mit Maus-Rechtsklick --> „send to“ --> „compressed zip file“ --> zip-Datei erstellen
- MSI öffnen --> „New identification“ --> zip-Datei auswählen --> Bank „Fungi“ --> „Identify“

## Zip file

File auswählen Keine ausgewählt

## Bank

Fungi

I have read the disclaimer

Read disclaimer

Identify

# MSI V2.0 Applikation: Ergebnisansicht

Name of the project: 7a01dc51-24f0-42eb-85f3-f50daa32a3a5.zip

Look for past and standardized nomenclature on Myco Bank website : [Here](#)

For molds and fungi, you can have taxonomic information about a genus/species name here.

Enter only one word (enter "fumigatus" for "Aspergillus fumigatus").

You can enter partial names ("cand" will return data for "Aspergillus candidus" as well as for "Candida albicans" and other Candida species).

Write name here




## Project results

\*If you have an excel error message, you can accept the file.

Spot name	Plot	Indice	Score 1 (%)	First Identified Species	Score 2 (%)	Second Identified Species	Score 3 (%)	Third Identified Species	Compare	Details
19c6440d-8b57-4bbb-bd82-4bc80c5d0b91_A01	Plot	A	36.85	Penicillium brevicompactum	20.14	Penicillium buchwaldii	16.94	Penicillium coralligerum	<input type="button" value="Compare"/>	<input type="button" value="Details"/>
57837e88-a06a-464e-a0f8-defb807d4d5e_A02	Plot	B	27.36	Penicillium brevicompactum	21.25	Penicillium kongii	15.81	Penicillium coralligerum	<input type="button" value="Compare"/>	<input type="button" value="Details"/>
b12ad67d-99d6-4028-923d-574d39d18ad5_A03	Plot	B	27.97	Penicillium brevicompactum	27.39	Penicillium kongii	21.1	Penicillium coralligerum	<input type="button" value="Compare"/>	<input type="button" value="Details"/>
2a1f4a3d-0d77-4cee-bfc2-1b29014a8db2_A04	Plot	B	33.05	Penicillium brevicompactum	25.48	Penicillium kongii	22.66	Penicillium buchwaldii	<input type="button" value="Compare"/>	<input type="button" value="Details"/>

## Legend for indices

Indice	Identification	Test made
A	Up to species	(1st score > 20)
B	Up to complex	(1st score > 20)
C	Unrelevant	(1st and 2nd s)

Index	Identifikation	Bedingung
A	bis Spezies	<ul style="list-style-type: none"><li>• 1st score &gt;22 and 2nd score &gt;20 and 1st-2nd &gt;8</li><li>• 1st score &gt;22 and 2nd score &lt;20</li><li>• 1st score &gt;20 but &lt;=22 and 1st-2nd &gt;2</li></ul>
B	bis Spezies-Komplex	<ul style="list-style-type: none"><li>• 1st score &gt;22 and 2nd score &gt;20 and 1st-2nd &lt;8</li><li>• 1st score &gt;20 but &lt;=22 and 1st-2nd &lt;2</li></ul>
C	nicht relevant	<ul style="list-style-type: none"><li>• 1st score &lt;20</li></ul>

Identifikationsebene	Bedingung
<b>Spezies</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Index A gleiche Spezies</li><li>• Index A und Index B gleiche Gattung</li></ul>
<b>Gattung</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• kein Index A</li><li>• Index B gleiche Gattung</li></ul> <hr/> <ul style="list-style-type: none"><li>• Index A unterschiedliche Spezies</li><li>• Index A und Index B gleiche Gattung</li></ul>
<b>No ID</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Bedingungen für Spezies oder Gattung nicht erfüllt</li></ul>

# MSI V2.0 Applikation: LLBB Bewertungsschema

Spot name	Plot	Indice	Score 1 (%)	First Identified Species	Score 2 (%)	Second Identified Species	Score 3 (%)	Third Identified Species
47ae2303-83bc-43e6-a7cd-90cf7310eb09_A01	Plot	A	54.01	Trichophyton benhamiae	41.95	Trichophyton erinacei	30.55	Trichophyton bullosum
e068821a-4dc4-4c5c-9378-dc5b91572cae_A02	Plot	A	56.6	Trichophyton benhamiae	40.46	Trichophyton erinacei	31.62	Trichophyton bullosum
0301ddc4-6d17-40db-a492-0c03069666d6_A03	Plot	A	54.55	Trichophyton benhamiae	40.29	Trichophyton erinacei	29.38	Trichophyton concentricum
03c6768c-217e-442b-baff-960ce681529f_A04	Plot	A	59.48	Trichophyton benhamiae	44.74	Trichophyton erinacei	37.36	Trichophyton bullosum
930067d8-ad6a-4652-8226-f36d2cbd477a_A05	Plot	B	42.34	Trichophyton tonsurans/equinum	42.34	Trichophyton equinum	41.66	Trichophyton interdigitale
80f67390-d06b-4a55-97d9-8d3aaaa614e0_A06	Plot	B	46.87	Trichophyton tonsurans/equinum	46.87	Trichophyton equinum	45.01	Trichophyton mentagrophytes
ee00ddfc-2df4-4ecb-a22c-36d146180f66_A07	Plot	B	44.04	Trichophyton equinum	44.04	Trichophyton tonsurans/equinum	41.8	Trichophyton interdigitale
dd0d0214-5efc-4a74-ae23-a1634a5c1d88_A08	Plot	B	42.19	Trichophyton equinum	42.19	Trichophyton tonsurans/equinum	41.51	Trichophyton interdigitale
5deebc2f-066d-4055-bc99-fe8e7031f770_A09	Plot	A	70.89	Trichophyton indotineae	57.96	Trichophyton mentagrophytes	54.86	Trichophyton interdigitale
84b9894a-e007-47d6-bfbd-fae8167a8bf4_A10	Plot	A	71.72	Trichophyton indotineae	57.69	Trichophyton interdigitale	56.21	Trichophyton mentagrophytes
bb9260bb-4d7f-41c4-9be3-e49b38a9e49d_A11	Plot	B	65.08	Trichophyton indotineae	57.33	Trichophyton interdigitale	55.01	Trichophyton mentagrophytes
8d88028a-2b85-44f5-bff7-1a0f8227b017_A12	Plot	A	68.11	Trichophyton indotineae	58.92	Trichophyton mentagrophytes	54.42	Trichophyton interdigitale

Spezies: *Trichophyton benhamiae*

Gattung: *Trichophyton* sp.

Spezies: *Trichophyton indotineae*

# MSI V2.0 Applikation: LLBB Bewertungsschema

0e1218c3-5ea9-4894-a70a-b2dcd7f3be92_C09	Plot	C	0	Not identified	0	Not identified	0	Not identified
6e192317-bedc-4864-8650-73608b278517_C10	Plot	C	18.96	Trichophyton erinacei	16.66	Trichophyton benhamiae	13.32	Trichophyton bullosum
d3db8422-d49e-48ce-a1d8-5160a722f172_C11	Plot	A	29.59	<b>Trichophyton erinacei</b>	19.56	Trichophyton benhamiae	17.94	Arthroderma uncinatum
78ad20d0-7866-4279-ac2b-a271e336b31d_C12	Plot	C	17.93	Trichophyton benhamiae	16.0	Trichophyton erinacei	0	Not identified

Spezies: *Trichophyton erinacei*

- **eigene Stamm-Asservate mit „Referenzidentifikation“**
  - 89 Stämme (21 Sequenz, 4 DSMZ, 24 RV, 40 Mykologie-Kurse)
  - 49 Spezies aus 20 Gattungen
  - **basierend auf Nomenklatur Stand August 2021 (MycoBank)**

Ergebnis	Stämme n (%)
Spezies korrekt	62 (69,6)
Referenz-ID/Spezies fraglich	8 (9,0)
Gattung korrekt	16 (18,0)
No ID	3 (3,4)



## Referenz-ID/Spezies fraglich

Referenz-Identifikation	Identifizierte Spezies
<i>Nannizzia gypsea</i> <sup>1)</sup>	<i>Nannizzia incurvata</i>
<i>Lichtheimia corymbifera</i>	<i>Lichtheimia ramosa</i>
<i>Aspergillus glaucus</i>	<i>Aspergillus pseudoglaucus</i>
<i>Aureobasidium pullulans</i>	<i>Aureobasidium melanogenum</i>
<i>Fusarium solani</i>	<i>Fusarium petroliphilum</i> (FSSC)
<i>Didymella glomerata</i>	<i>Didymella aurea</i>

<sup>1)</sup> 3 Stämme aus Ringversuchen eines Anbieters bzw. entsprechendem Vorbereitungskurs --> ggf. identisch

## ➤ Ringversuche

- INSTAND Sprossspitze/Hyphomyzeten, Dermatophyten; LGA BW Schimmelpilze
- 18 Stämme
- 17 Spezies aus 11 Gattungen

Ergebnis	Stämme n (%)
Spezies/Sektion korrekt	16 (88,8)
Gattung korrekt	1 (5,6)
No ID	1 (5,6)

1 Stamm (*T. indotineae*) in 09/21 zunächst Fehlidentifikation (*T. tonsurans/equinum*)  
--> bei Wiederholung in 07/22 Identifikation korrekt (Datenbank-Update)



- sehr umfangreiche Datenbank
- gut kuratiert und ständig erweitert
- **zuverlässige Identifizierung über breites mykologisches Spektrum**
- **kostenfrei**



- **kein aktuelles Tutorial, keine Hinweise zur Präparation**
- Angabe der Bewertungsalgorithmen inkorrekt bzw. unvollständig
- **keine Hinweise zu Datenbank-Updates**
- ID-Raten auf Speziesebene z. T. (noch) unbefriedigend (*Trichophyton*-Arten)
- Datenmanagement umständlich und schwer zu automatisieren
- nur mit Bruker-MBT kompatibel

Die MSI Applikation besitzt großes Potential für eine zeitgemäße mykologische Diagnostik.

**Unbedingt ausprobieren!**

# Danksagung

**Petra Irmer**  
**Juliane Koch**  
**Iris Granitza**  
**Martina Brunsch**

