



Mikroorganizma Tanısında Gerçekleşen Gelişmeler: MALDI- TOF MS ile Mikroorganizma Tanısı

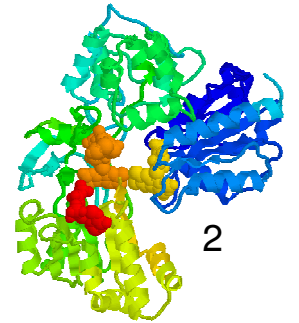
Dr. İbrahim Çakır

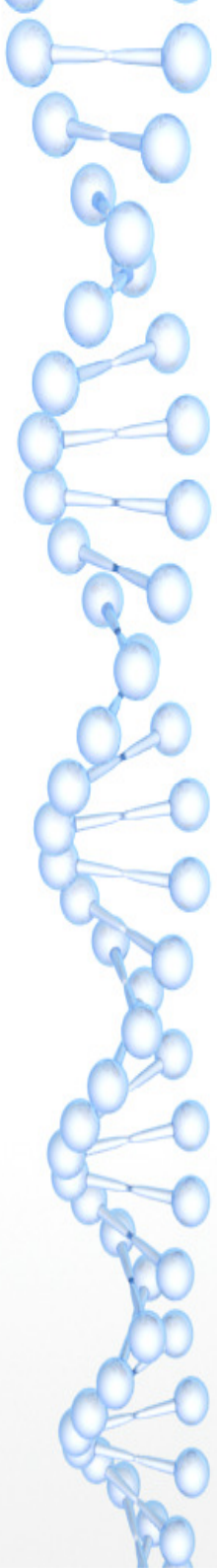
**Abant İzzet Baysal Üniversitesi
Mühendislik Mimarlık Fakültesi
Gıda Mühendisliği Bölümü**

**Türkiye 11. Gıda Kongresi
10-12 Ekim 2012, Hatay**

Terminoloji

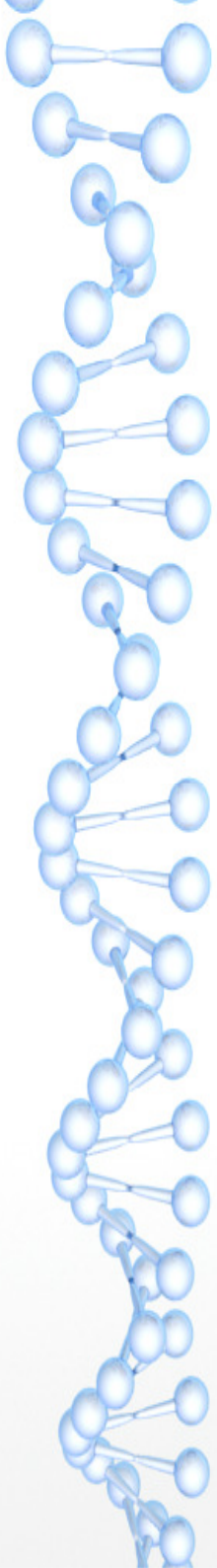
- **Proteom**; belli bir zamanda, belli bir hücrede, belli bir dokuda, belli bir organizmada bulunan gereken tüm biyokimyasal tepkimeleri yürüten proteinlerin tamamı
- **Proteomik** ise belli bir organizmada bulunan proteinlerin toplamını incelemek için kullanılan yöntemlerin tümü





Proteomik çalışmalarında kullanılan yöntemler

- ELISA
- 2D PAGE (İki yönlü jel elektroforez)
- Mikroarray (Doku ve protein çip teknolojisi)
- Kütle spektrometresi
 - MALDI TOF MS (Matrix assisted laser desorption/ionization- time of flight Mass Spectrometry)
 - SELDI TOF MS (Surface enhanced laser desorption/ionization time of flight Mass Spectrometry)



MALDI-TOF MS

- Matriks ile desteklenmiş lazer desorpsiyon / iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi
- Alman ve Japon bir araştırma grubunun 1980'lerin sonunda geliştirdikleri proteinlerin

peptit kütle parmak izi analiz tekniği

2002 Kimya Nobel Ödülü

“Biyolojik makromoleküllerin yapısal analizi ve tanımlanması yöntemlerinin geliştirilmesi”

“Biyolojik makromoleküllerin soft desorpsiyon iyonizasyon yöntemiyle kütle spektrometrik analizi”

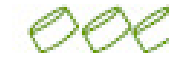
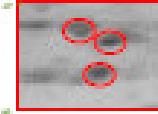
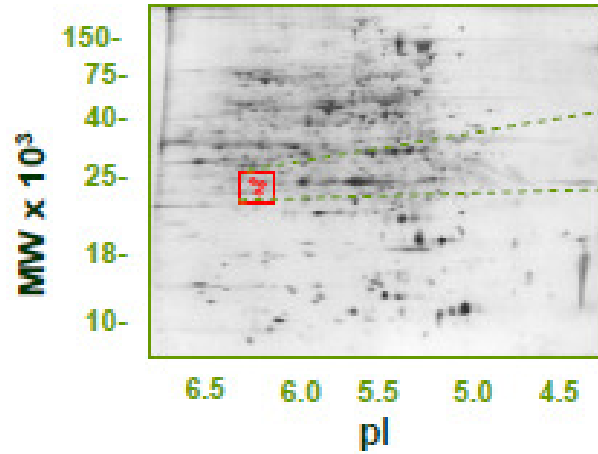


John Fenn

Koichi Tanaka

Kütle Spektrometresiyle Protein Tanımlanması

2-D Gel Electrophoresis



Kesip
çıkarılan
protein
noktaları

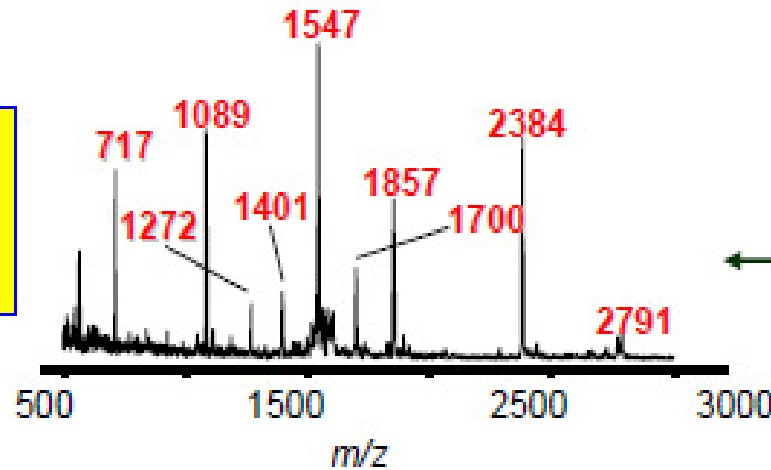


Jelde
trypsinle
müdahale

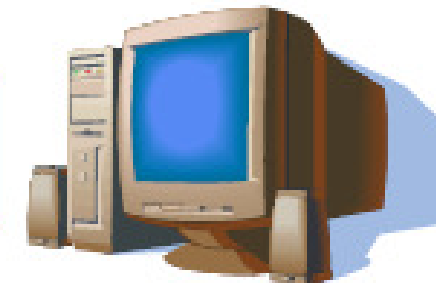


Yeniden
tryptic
peptidler
elde edilir

MALDI-TOF veya LC-ESI-MS.
Peptid kütle fingerprint
MS/MS ile ek sekans bilgileri
elde edilebilir.



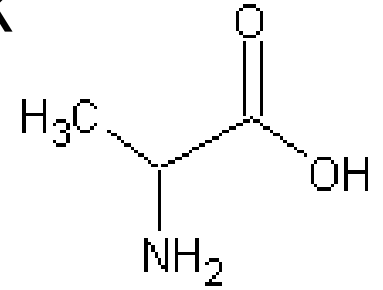
Proteomik veya genomik
veritabanları kullanılarak protein
tanımlanması



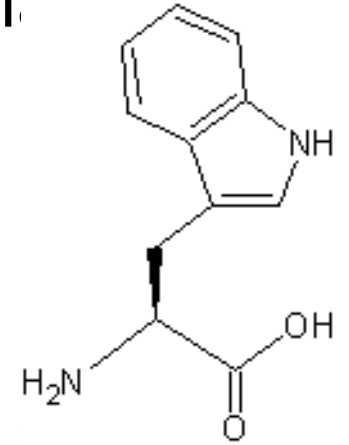
MALDI-TOF MS

- MALDI yeni bir iyonizasyon teknolojisi olarak 1988 yılında **Franz Hillenkamp ve Michael Karas** (Munster Üniversitesi, Almanya).
- Çıkış noktası; alanin aminoasidi triptofanla karıştırıldığı zaman 266 nm lazer altında dah kolay iyonize olduğunu keşfedilmesi.

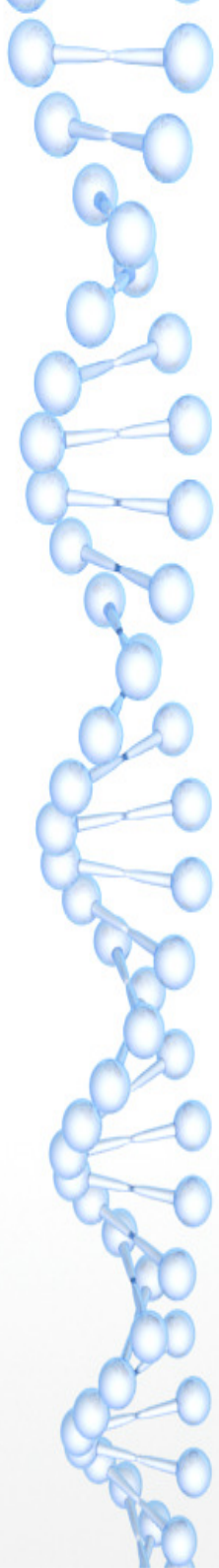
Burada karışım halinde iken triptofan lazer enerjisini absorbe ediyor ve saf olarak ışını kolay absorbe edemeyen alaninin iyonizasyonunu kolaylaştırıyor.



Alanin



Triptofan

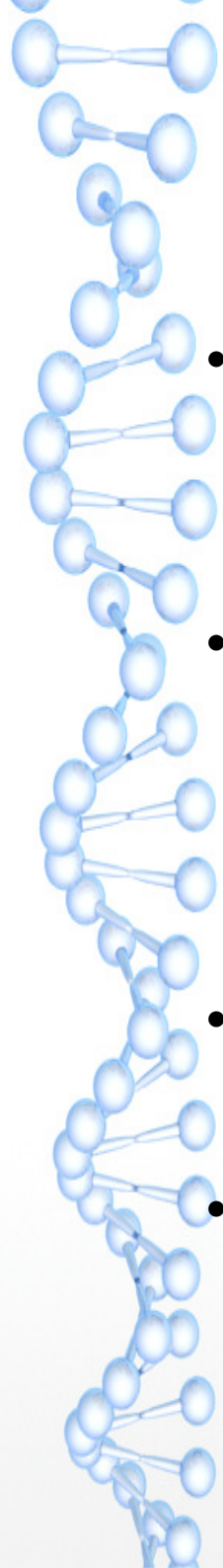


- Yöntem:

- Analitin organik bir matriks üzerine ko-kristalizasyonu esasına dayanır.

- Matriks

- Işığ $\ddot{u}$ özgül dalga boylarında absorbe edebilen küçük moleküllerden oluşur.
- Biyomolekülleri lazer ışınlarının doğrudan tahribatından korur.
- Buharlaştırma ve iyonizasyonun kolaylaştırılması
- Asidik ve organik karakterdedir.



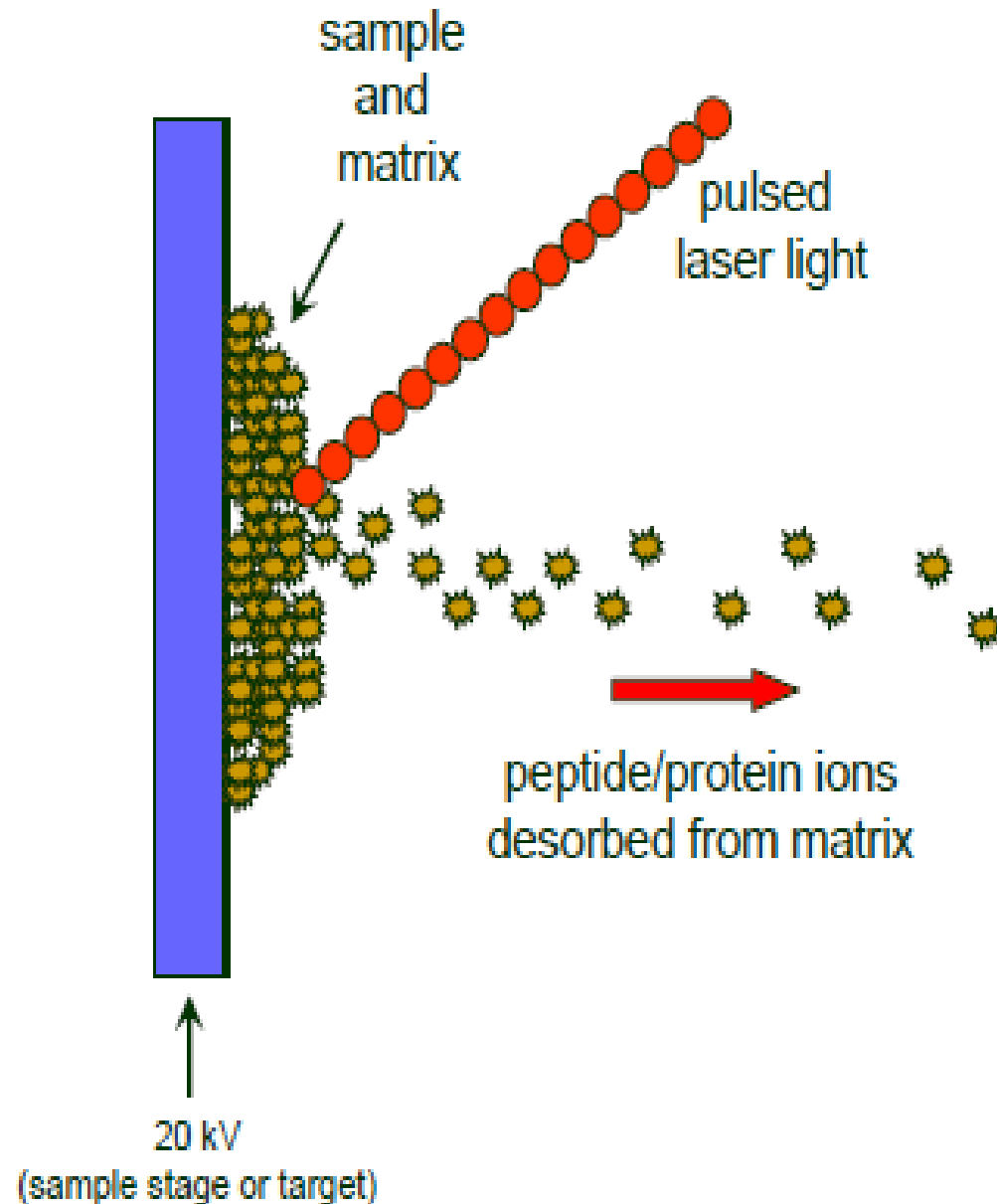
MALDI Prensip

- MALDI kütle spektrometresinde kullanılan bir **iyonizasyon tekniği** dir.
- Biyomoleküllerin (protein, peptid ve şeker gibi) büyük organik moleküllerin (polimer, dendrimer, makromolekül gibi) analizi
- İyonizasyon **lazer atışı**
- **Matriks** biyomolekülün amacı; direkt lazer atışının tahribinden korumak ve iyonizasyonu kolaylaştırmak

MALDI Matriks

- UV absorbe eden matriks (Tanaka; Japonya / Hillenkamp ve Karas; Almanya)
- Matriks ve polimer moleküler düzeyde uygun bir çözücü (formik asit, trifloroasetik asit, asetik asit vb.) içinde karıştırılır.
- Çözücü polimerin agregasyonunu engeller.
- Örnek/matriks karışımı örnek prop ucuna yerleştirilir.
- Vakum koşullarıyla çözücü uzaklaştırılarak matriks molekülleri içinde homojen olarak yayılmış polimer moleküllerini bırakır.

MALDI



- Tanaka (Japonya) ve Hillenkamp/Karas (Almanya) tarafından geliştirildi
- Peptid analiti MALDI plağında uygun matriks içinde ko-kristalizasyona uğrar
- Plaka bir nitrojen (N_2) lazer tarafından 337 nm U.V. ışına maruz bırakılır
 - Matriks lazer enerjisini absorbe eder
 - Enerji yüzeyden analite transfer olur
 - Analit proton transferiyle iyonize hale geçer
 - İyonlar kütle analiz birimine aktarılır (TOF)

MALDI

- Enerjiyi göndermenin en iyi yolu lazer ışını kullanmak
- Bu nedenle lazer dalga boyunu en iyi şekilde absorbe edecek bir madde matriks olarak seçilir
- Bu durumda en uygun matriks maddesi aromatik moleküllerdir.

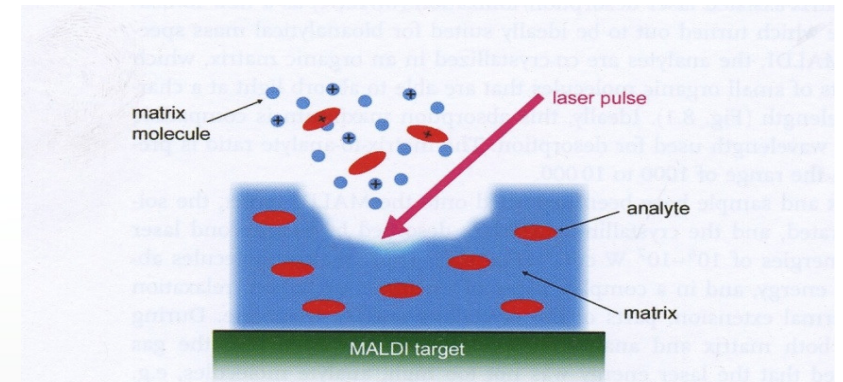
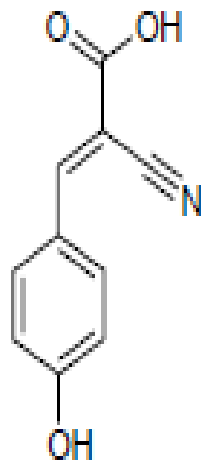
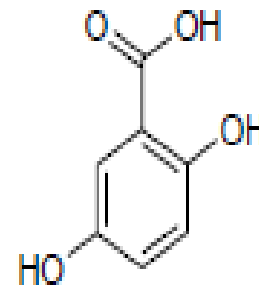


Fig. 8.2 Principle of the MALDI process. Initially, analyte and matrix are co-crystallized. After evaporation of the solvent, a nanosecond laser pulse is directed onto the crystalline surface, and both matrix and analyte molecules are desorbed. A complex reaction cascade leads to the formation of charged analyte molecules that reach the mass spectrometer without significant fragmentation.

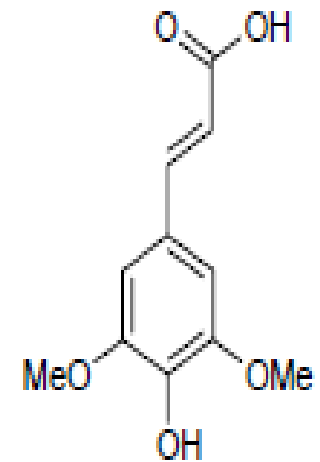
MALDI Matriksleri



4-hydroxy- α -
cyanocinnamic
acid ("alpha-
cyano" or 4-
HCCA)
peptides



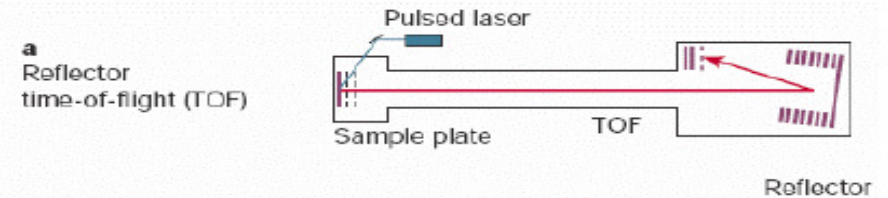
2,5-dihydroxybenzoic acid (DHB)
peptides and proteins

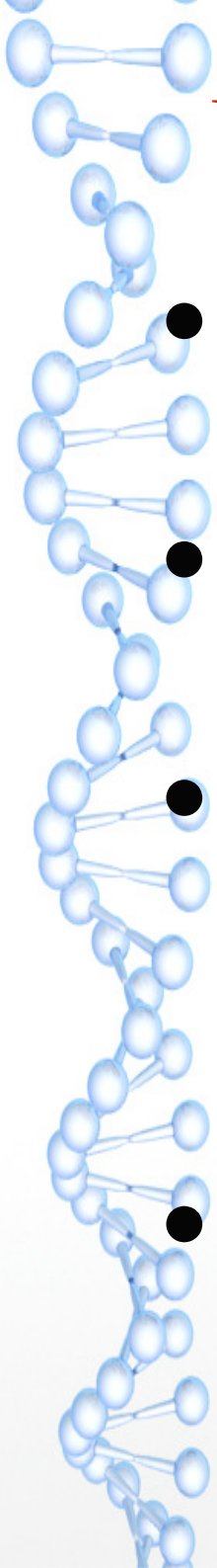


3,5-dimethoxy-4-
hydroxycinnamic
acid (sinapinic acid)
proteins

Uçuş Zamanı (TOF)

- TOF'da reflektör, yığın halinde bir halkasal lens grubundan oluşur.
- Halkalara sürekli artan bir yüksek potansiyel uygulanır.
- Böylece iyonlar yüksek kinetik enerji ile ivmelendirilir.
- İyonlar tüp boyunca hız farklarına göre ayrılır.
- Detektöre çarpan iyonlar kuvvetlendirilerek sayılır.



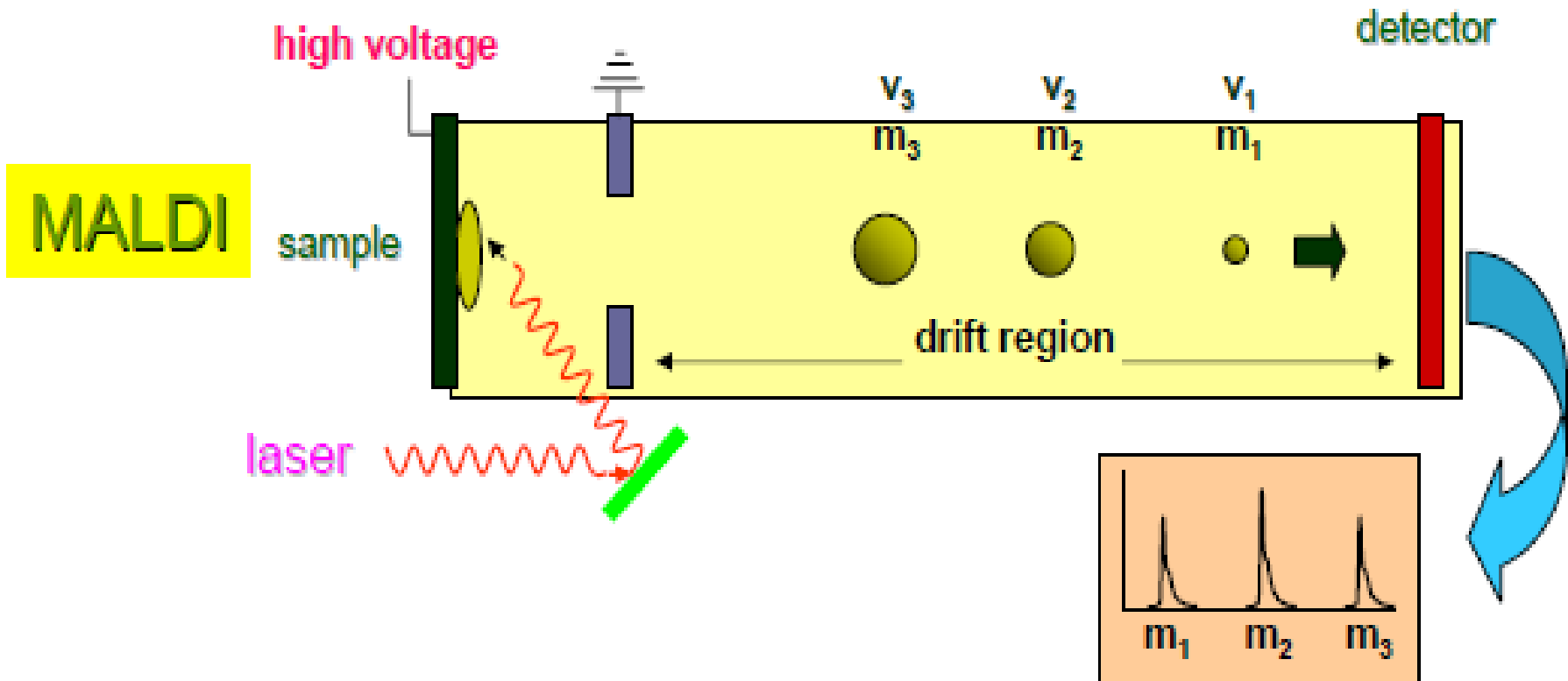


Uçuş Zamanına Göre Proteinlerin Hızı 1

- Hareket anında her peptit bir paket iyonla temsil edilir.
- Bu iyonlar dar bir aralıktaki kinetik enerjiye yani hıza sahip olarak hareket eder.
- Hızlı hareket eden iyonlar, sahip oldukları yüksek kinetik enerji nedeniyle reflektona ilk önce ulaşır ve daha fazla hareket ederler.
- Kinetik enerjileri sıfır oluncaya kadar bu hareket devam eder.

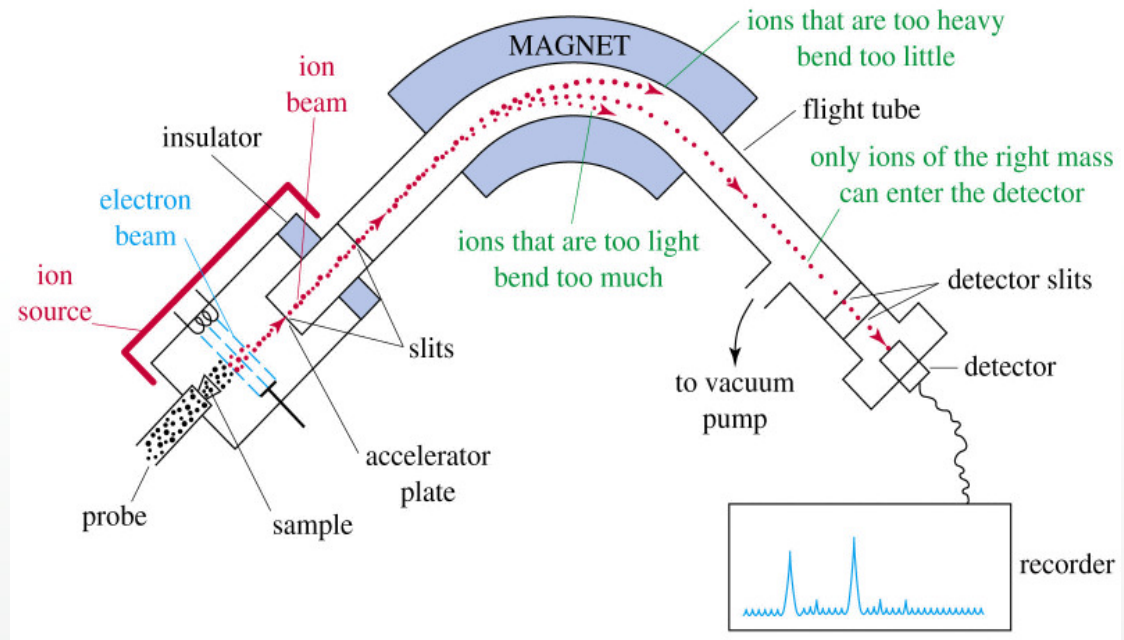
Uçuş Zamanına Göre Proteinlerin Hızı 2

- Bu arada diğer iyonlar da reflektora giriş yaparlar. Bu iyonlar yönleri değiştirilmeden önce reflektör içinde az hareket ederler. (Kinetik enerjileri daha az olduğu için daha çabuk sıfır noktasına ulaşırlar)
- Sonuç olarak yavaş hareket eden iyonlar iyon paketinin önündeyken hızlı hareket edenler gerisinde kalır.



MALDI TOF MS

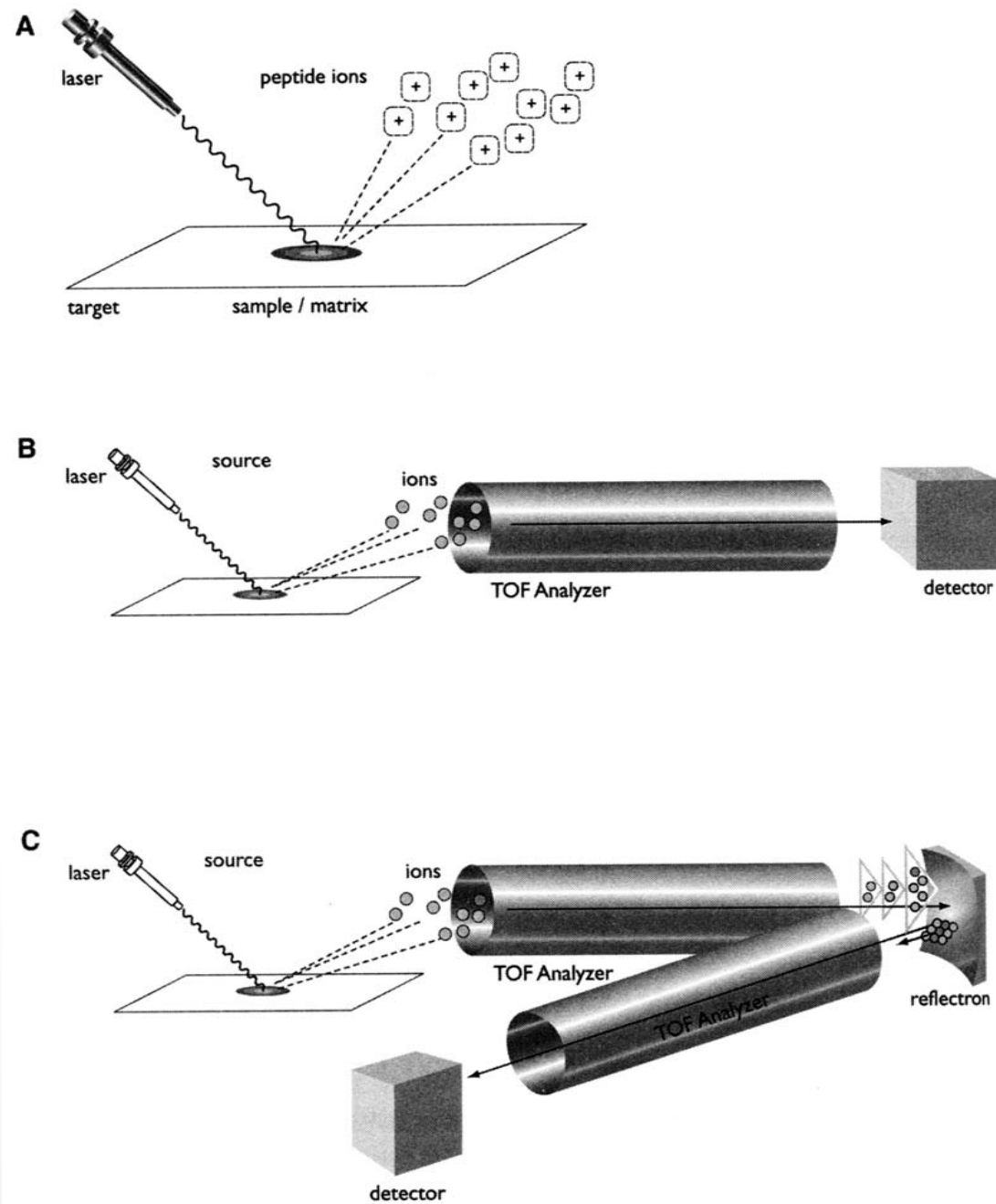
- Moleküller aynı yüke sahip olduklarında kütleleriyle orantılı bir hıza sahip olurlar.
- Peptitler kütlelerine göre uçuş tüpünün içinden geçerler ve farklı zaman aralıklarında detektöre çarparlar.
- Kütle spektrometrisi verileri kolayca **m/z oranına** dönüştürür.



Biraz da fizik...

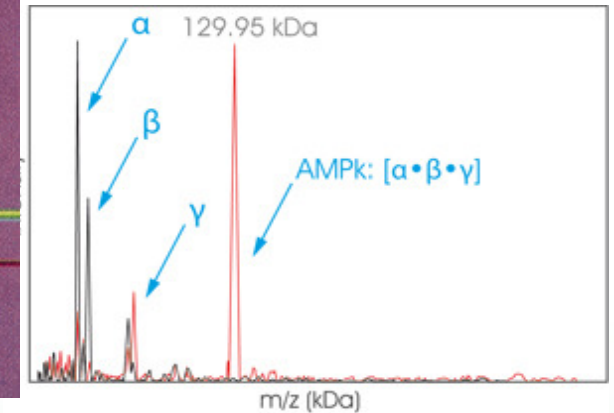
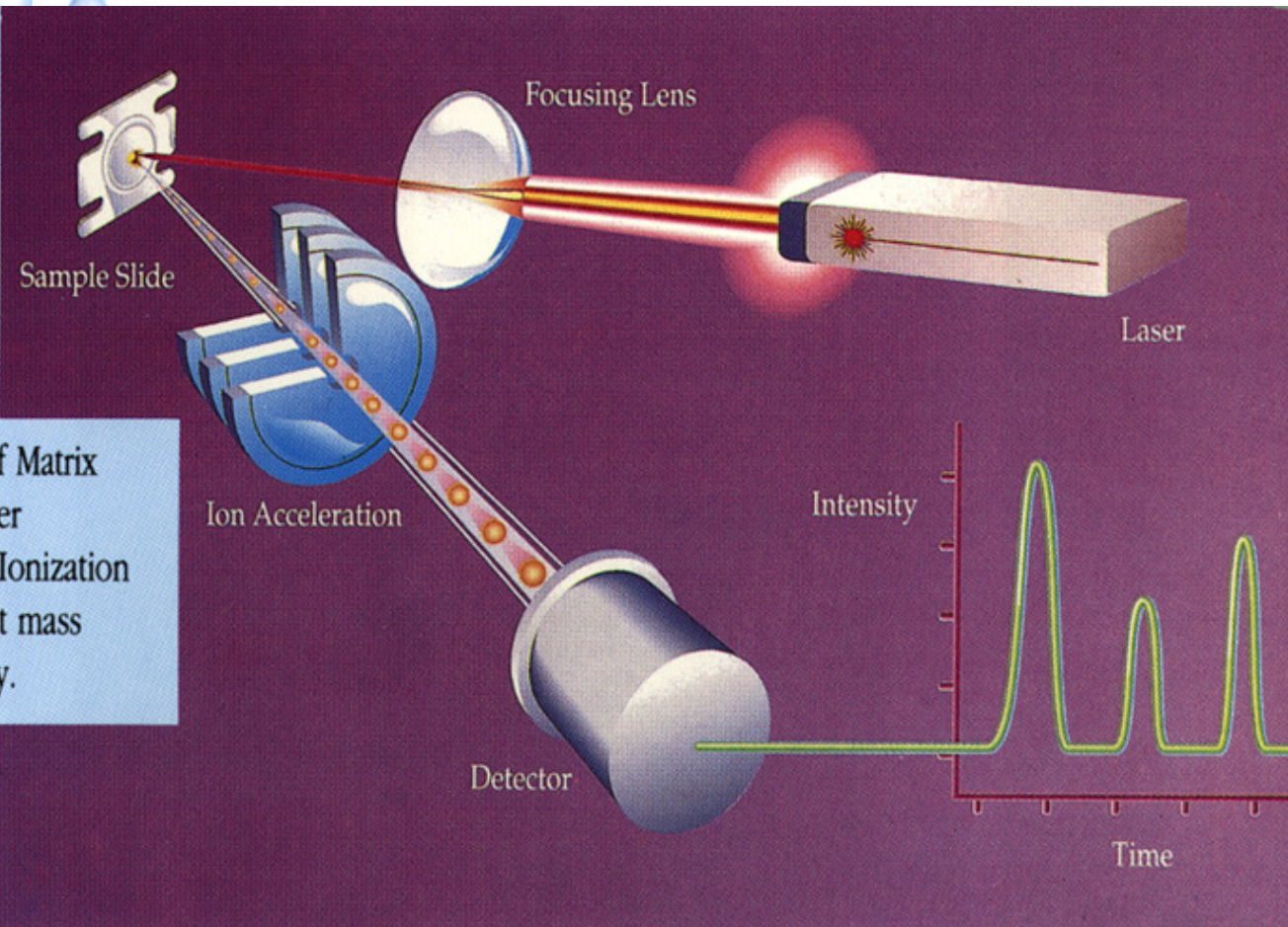
- Lazer vuruşları ile oluşan dijitalize veriler **TOF kütle spektrumu** oluşturacak şekilde toplanır.
- **TOF kütle spektrumu** zamanın bir fonksiyonu olarak saptayıcı sinyalin bir kaydıdır.
- Kütlenin (m) bir molekülünün **uçuş zamanı** ve bu mesafeyi geçerken yüklendiği **akım** (z) $(m/z)^{1/2}$ ' ye orantılıdır.
- Zaman ve $(m/z)^{1/2}$ arasındaki ilişki **iyonların kütlelerini** hesaplamada kullanılabilir.

MALDI-TOF Kütle spektrometre

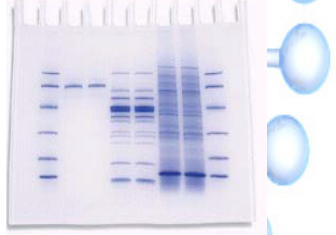


MALDI TOF MS

Schematic of Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization time-of-flight mass spectrometry.



MALDI-TOF MS Akış Şeması



Jel elektroforezinden izole edilen **proteinler enzimlerle parçalanır**, tuzlarından arındırılır

Kristalizasyon için doymuş matriks solusyonu içeren MALDI plağına aktarılır

Lazer ışını uygulanır

Hızlı enerji transferiyle plaka yüzeyinden iyon fırlatılır ve **peptidleri gaz fazına dönüştürür**

Peptidler ağız kısmına $(z/m)^{1/2}$ orantılı bir hızla ulaşırlar

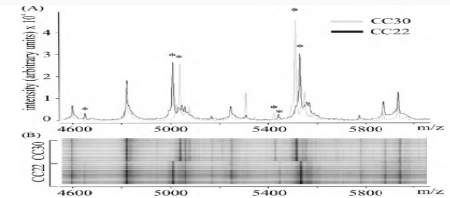
Pozitif yüklü **peptidler uçuş tüpünün ağızına doğru hızlanır**

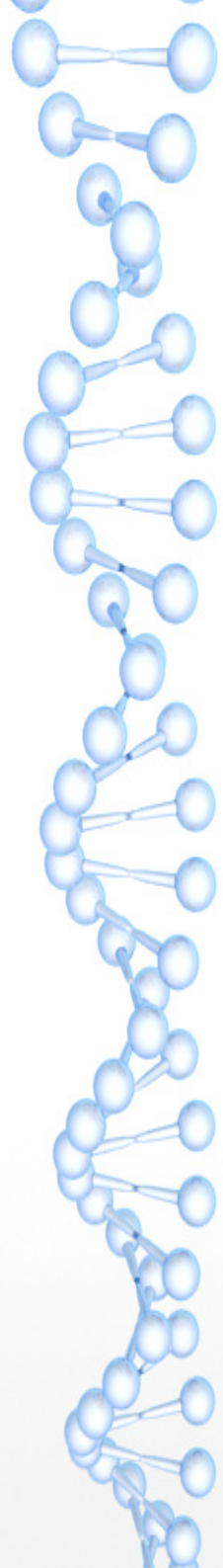
MALDI plağına +20 ile +30 kV'larda **yüksek voltaj** uygulanır

Peptidler ağız kısmını geçtikleri anda hepsi aynı kinetik enerjiye sahiptir ancak farklı kütlelerden dolayı aynı hıza sahip değildir

Küçük kütleli iyonlar önce detektöre çarpar ve sinyal kaydedilir

Veriler bilgisayar ortamında değ





Biyoinformatik Analiz

- BioTyper

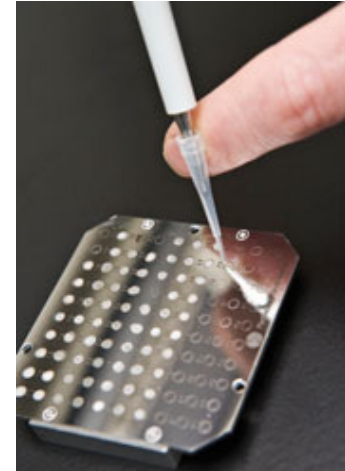
(Bruker Daltonics Inc., Bremen, Almanya)

- Saramis

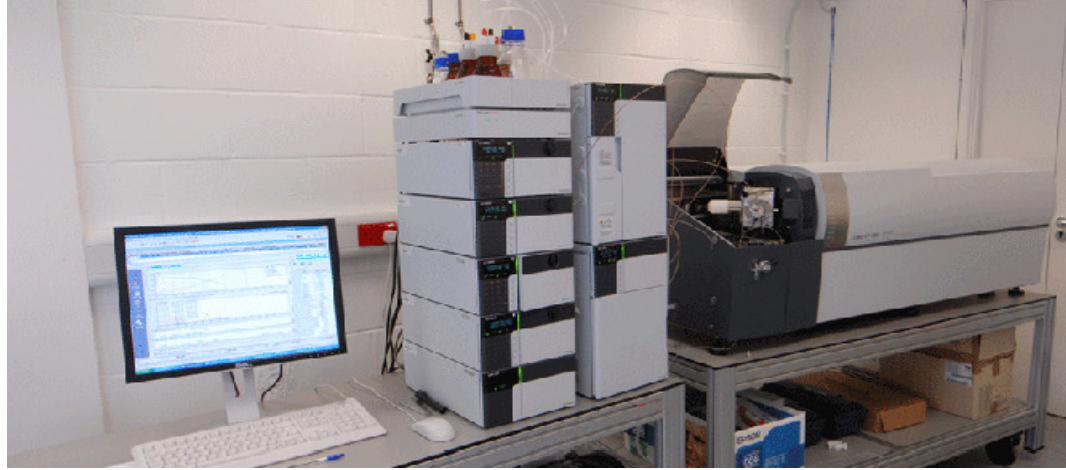
(Anagnos Tec GmbH, Potsdam-Golm,
Almanya)

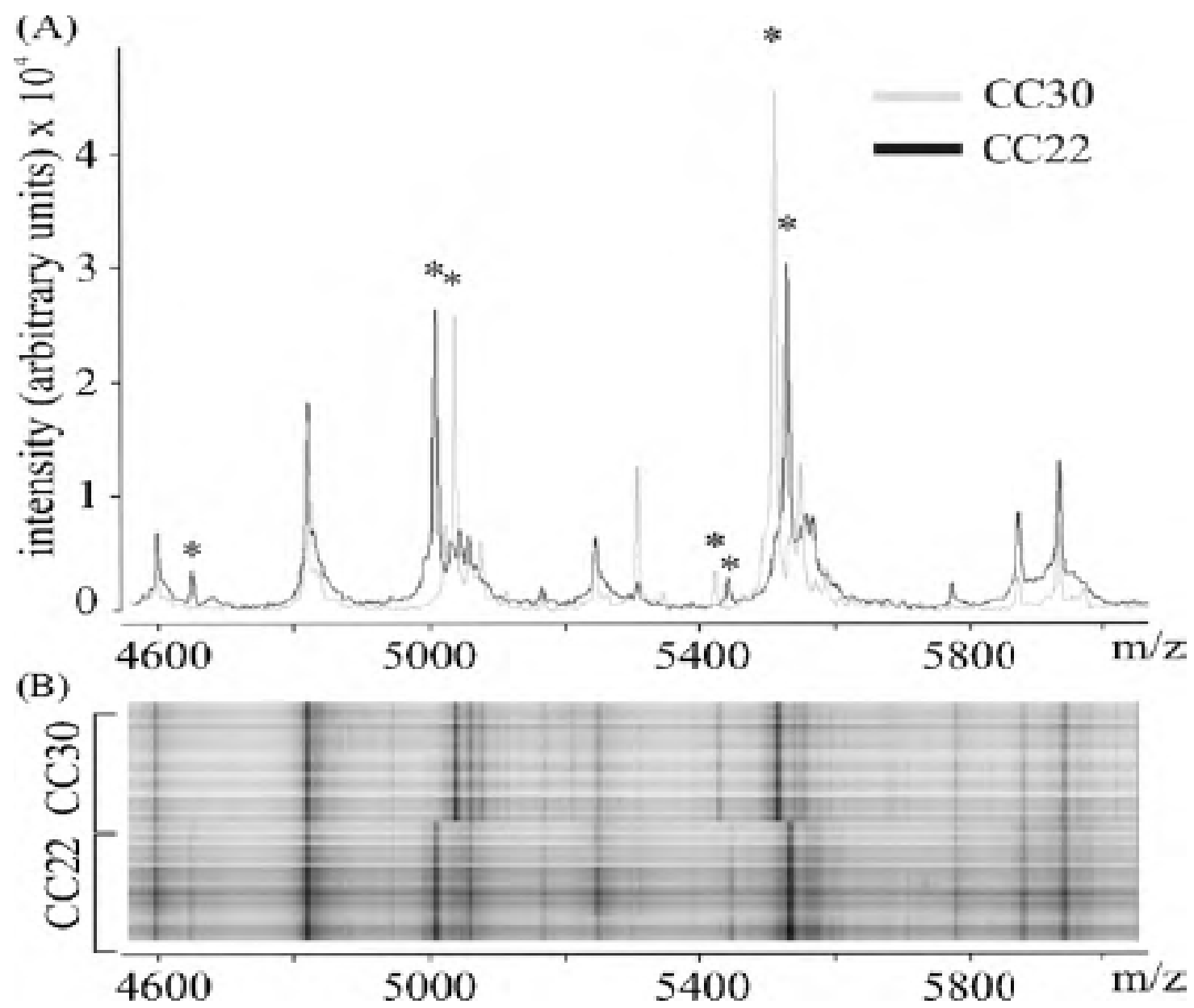
Kullanılan Cihazlar

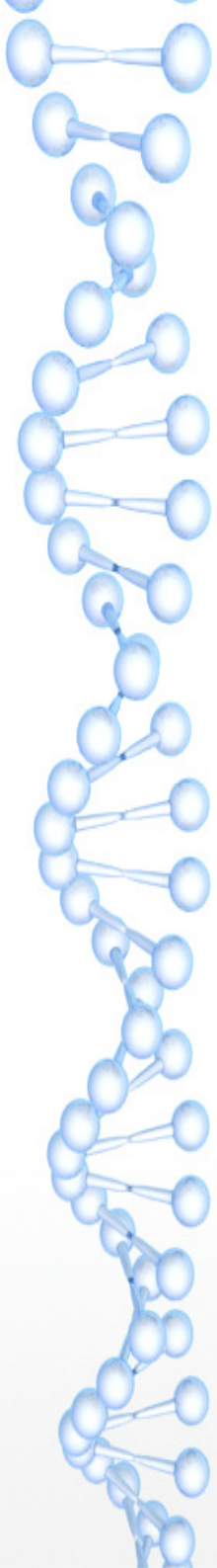
- Applied Biosystems Voyager DE Pro MALDI-TOF
- Applied Biosystems Q-Star ESI-Quadrupole-TOF
- Shimadzu LC MS IT-TOF mass spectrometer
- Sequenom Mass ARRAY Compact Analyser



Kullanılan Cihazlar







Protein Veritabanları

- Pep Sea ve MS-Fit

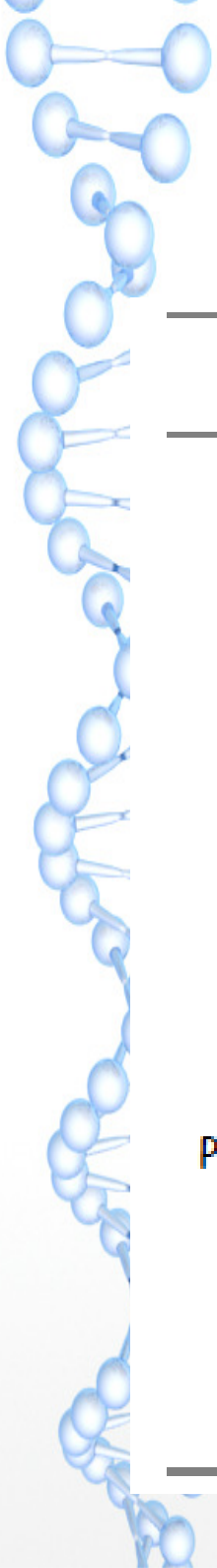
(<http://prospector.ucsf.edu>)

- MOWSE ve Mascot

(<http://www.matrixscience.com/>)

- Profound

(<http://prowl.rockefeller.edu/>)



Kütle Spektrometrik Verilerle Proteinlerin Tanımlanmasında Kullanılabilecek Web Adresleri

Program	Web Address
BLAST	http://www.ebi.ac.uk/blastall/
Mascot	http://www.matrixscience.com/cgi/index.pl?page=/home.html
MassSearch	http://cbrg.inf.ethz.ch/Server/ServerBooklet/MassSearchEx.html
MOWSE	http://srs.hgmp.mrc.ac.uk/cgi-bin/mowse
PeptideSearch	http://www.narrador.embl-heidelberg.de/GroupPages/PageLink/peptidesearchpage.html
Protein Prospector	http://prospector.ucsf.edu/
Prowl	http://prowl.rockefeller.edu/
SEQUEST	http://fields.scripps.edu/sequest/

Mascot (Matrix Science) ile Peptit Kütle Parmak İzi Analizi

Matrix Science - Microsoft Internet Explorer

File Edit View Favorites Tools Help

Back Forward Stop Home Search Favorites Media Print View Source

Address http://www.matrixscience.com/cgi/index.pl?page=/home.html Go Links Norton AntiVirus

Mascot: Peptide Mass Fingerprint

[HOME](#)
[MASCOT](#)
[HELP](#)
[WHAT'S NEW](#)
[PRODUCTS](#)
[SUPPORT](#)
[SITE SEARCH](#)
[LINKS](#)
[EMPLOYMENT](#)
[CONTACT US](#)

Your name Joe **Email** jloo@chem.ucla.edu

Search title Chem 266 example

Database NCBIInr

Taxonomy All entries

Enzyme Trypsin **Allow up to** 1 missed cleavages

Fixed modifications AB_old_ICATd0 (C)
AB_old_ICATd8 (C)
Acetyl (K)
Acetyl (N-term)
Amide (C-term)

Variable modifications O18 (C-term)
Oxidation (M)
Oxidation (HW)
PEO-Biotin (C)
Phospho (ST)

Protein mass kDa **Peptide tol. $\pm$** 0.2 Da

Mass values ☒ MH⁺ ☐ M_r **Monoisotopic** ☒ **Average** ☐

Data file Browse...

Query 1116.67
NB Contents of this field are ignored if a data file is specified.

Overview ☐ **Report top** 20 hits

Start Search ... Reset Form

Copyright © 2000 Matrix Science Ltd. All Rights Reserved. Last Updated 04/30/2003 18:07:22

All entries

- Drosophila (fruit flies)
- Chordata (vertebrates and relatives)
- bony vertebrates
- lobe-finned fish and tetrapod clade
- Mammalia (mammals)
- Primates
- Homo sapiens (human)
- Other primates
- Rodentia (Rodents)
- Mus.
- Mus musculus (house mouse)

Oluşan pik listesi girişi

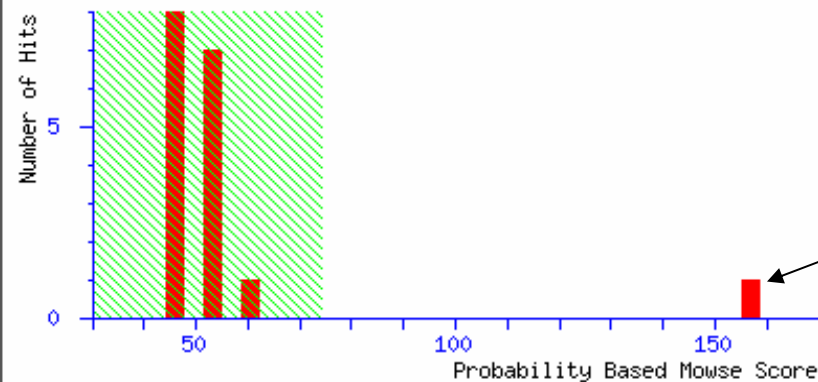
Mascot (Matrix Science) ile Peptit Kütle Parmak İzi Analizi

{MATRIX} Mascot Search Results **{SCIENCE}**

User : Joe
Email : j100@chem.ucla.edu
Search title : Chem 266 example
Database : NCBI nr 20030426 (1418929 sequences; 456730478 residues)
Timestamp : 1 May 2003 at 01:09:31 GMT
Top Score : 157 for **gi|15801397**, cell division inhibitor, a membrane ATPase, activates minC [Escherichia coli O1

Probability Based Mowse Score

Score is $-10 \cdot \log(P)$, where P is the probability that the observed match is a random event.
Protein scores greater than 74 are significant ($p < 0.05$).



Olası tanılanmış tür

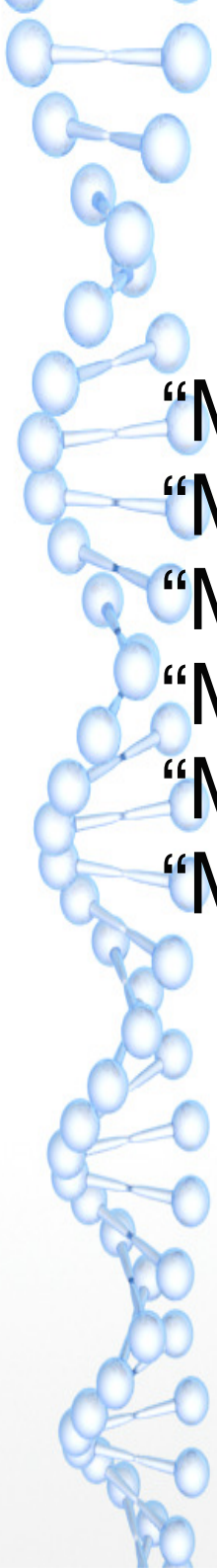
Concise Protein Summary Report

[Switch to full Protein Summary Report](#)

To create a bookmark for this report, right click this link: [Concise Summary Report \(Chem 266 example\)](#)

Re-Search All

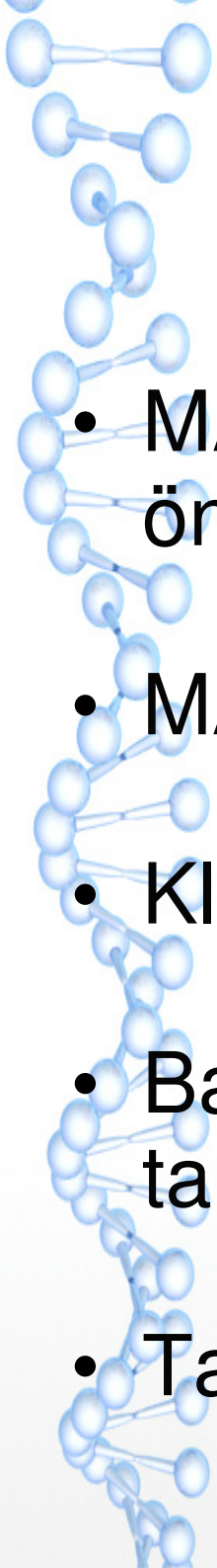
Search Unmatched



Makale sayıları?

“MALDI □ TOF”	9520
“MALDI □ TOF” “bacteria”	1875
“MALDI □ TOF” “fungi”	1194
“MALDI □ TOF” “virus”	297
“MALDI □ TOF” “yeast”	283
“MALDI □ TOF” “food-borne pathogens”	6
adet	

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez> Ekim 2012



MALDI-TOF MS ve Mikroorganizma Tanısı

- MALDI-TOF-MS mikroorganizma analizi için önemli bir tanı aracıdır
- MALDI-TOF-MS hastalık teşhis ve tanısında
- Klinik çalışmalar (kanın tarama testleri...)
- Bakteri, maya, küf ve virüslerin doğru ve hızlı tanımlanmasında
- Taksonomi ve epidemiyolojik çalışmalarda

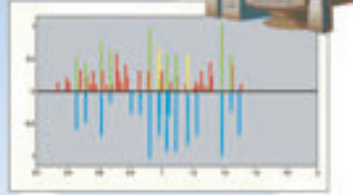
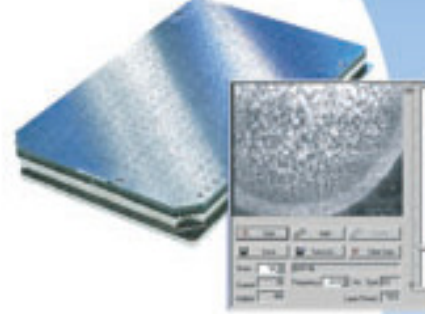
ClinProt BioTyper ile mikroorganizma tanısı ve sınıflandırmasında genel iş akış şeması

Bilinmeyen saf
kültürden
“tek koloni”

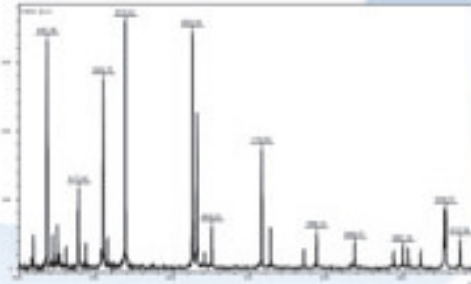


Örnek hazırlama:

- Herhangi bir işlem yapılmadan direkt ince tabaka
- Hücre ekstraktının direks ölçümü
- Numuneye HCCA çözeltisi ilavesi

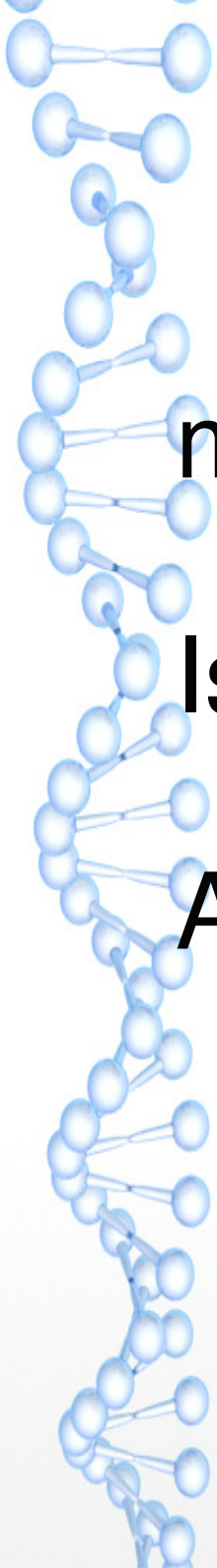


Veri değerlendirme
Tanımlama ve
sınıflandırma



MALDI-TOF MS spektrumun alınması
Tespit limiti:

- 10^5 hücre (çelik grid üzerindeki hedef/ örnek)
- Yaklaşık $0.5 \mu\text{g}$ biyolojik materyal
- 5×10^3 hücre (400) μm AnchorChip™ hedef)
- ~25 ng biyolojik materyal



Yapılmış Çalışmalar: MALDI-MS ile Bakteri Tanısı

m/z oranı ile biyobelirleyici iyonların belirlenmesi

Isıtılan **intakt** bakteri hücreleri

Anhalt JP, Fenselau C. **1975.**

Identification of bacteria using mass spectrometry. Anal Chem., **47: 219–25.**

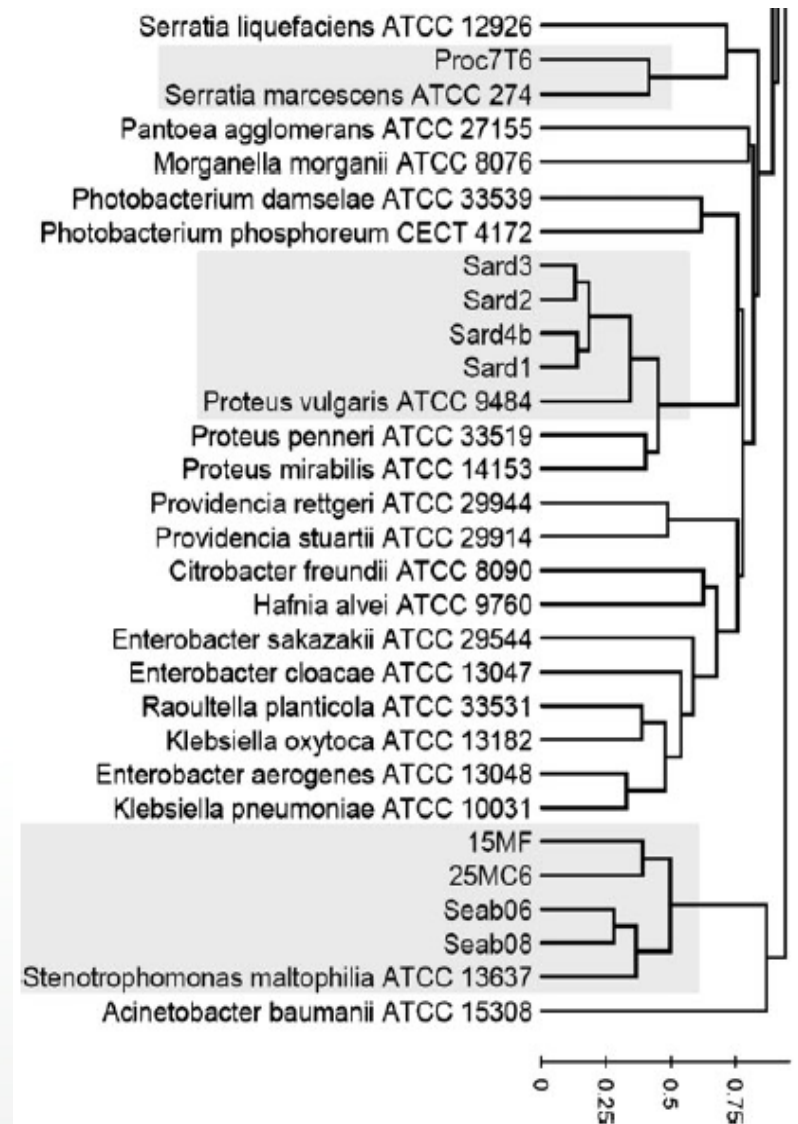


Safety Assessment of Fresh and Processed Seafood Products by MALDI-TOF Mass Fingerprinting

Karola Böhme • Inmaculada C. Fernández-No •
Jose M. Gallardo • Benito Cañas • Pilar Calo-Mata

identified bacterial risk. The results of this study showed that MALDI-TOF MS fingerprinting is a feasible, rapid, and cost-effective technique for the classification and identification of unknown bacterial strains isolated from fresh and processed seafood samples. The vast spectral data can be effectively examined by searching common peaks masses and cluster analysis. In further studies, a large

Tanı ve sınıflandırmada hızlı, maliyet etkin ve uygulanabilir bir yöntem



Rapid analysis of Gram-positive bacteria in water via membrane filtration coupled with nanoprobe-based MALDI-MS

Shuping Li · Zhongxian Guo · Hui-Fen Wu · Ying Liu ·
Zhaoguang Yang · Chee Hoe Woo

Sularda 5×10^2 KOB/mL
limitine kadar *B. cereus*,
E. faecium, *S. aureus*



Under the optimal conditions, more informative and reproducible MALDI mass spectra of the isolated bacteria could be obtained. A combination of MF and a VNP-based magnetic affinity technique can effectively enhance the enrichment factors of Gram-positive bacteria. *B. cereus*, *E. faecium*, and *S. aureus* spiked in tap water and reservoir water were detected with a detection limit of 5×10^2 cfu/ml by the MF-VNP/MALDI-MS approach. We believe that the proposed approach is useful in rapid analysis of Gram-positive bacteria in water samples.

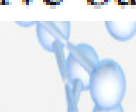


Table 1 ISO procedure, immunochromatographic test and MALDI-TOF mass spectrometry protocols in the samples of infant formula milk

SHORT COMMUNICATION

Rapid detection of genus *Cronobacter* in powdered infant formula milk

Barbora Javůrková · Martina Blažková ·
Ladislav Fukal · Pavel Rauch

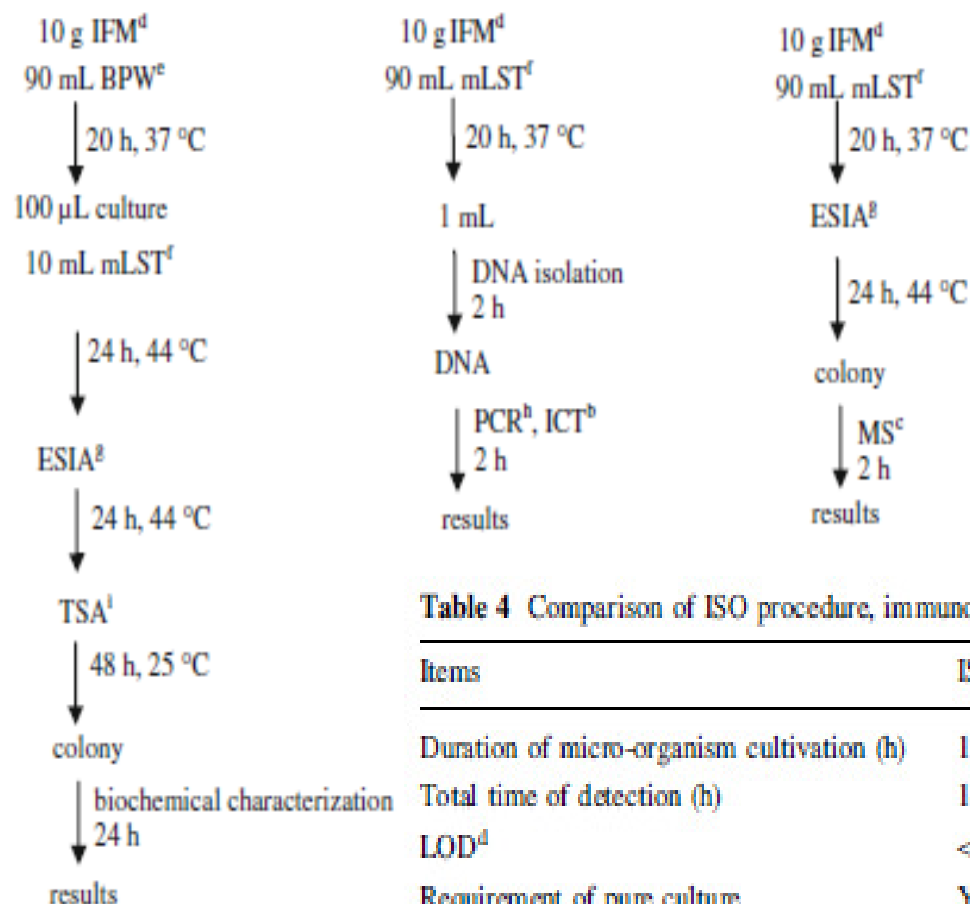


Table 4 Comparison of ISO procedure, immunochromatographic test and MALDI-TOF mass spectrometry

Items	ISO ^a	ICT ^b	MALDI-TOF ^c
Duration of micro-organism cultivation (h)	116	20	44
Total time of detection (h)	140	24	46
LOD ^d	<10 cells	<10 cells	<10 cells
Requirement of pure culture	Yes	No	Yes
Specificity	Genus <i>Cronobacter</i>	Genus <i>Cronobacter</i>	Genus <i>Cronobacter</i>
Required laboratory equipment	None	Thermocycler	MALDI-TOF MS, MALDI BioTyper™ system
Requirement of well trained personnel	Important	Less important	Less important
Labour costs per 100 tests (in €)	1,500	270	450

^a ISO ISO/TS 22964:2006

^b ICT immunochromatographic test

^c MALDI-TOF matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry

^d LOD limit of detection





Rapid Commun Mass Spectrom.1996;10 (10): 1227-32.

Rapid identification of intact whole bacteria based on spectral patterns using matrix- assisted laser desorption/ ionization with time-of-flight mass spectrometry.

HollandRD, WilkesJG, RafiiF, SutherlandJB, PersonsCC, VoorheesKJ, LayJO Jr.

Food and Drugs Administration, National Center for Toxicological Research, Jefferson, AR 72079, USA

Detection of Pathogenic and Non-pathogenic Bacteria by Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-flight Mass Spectrometry

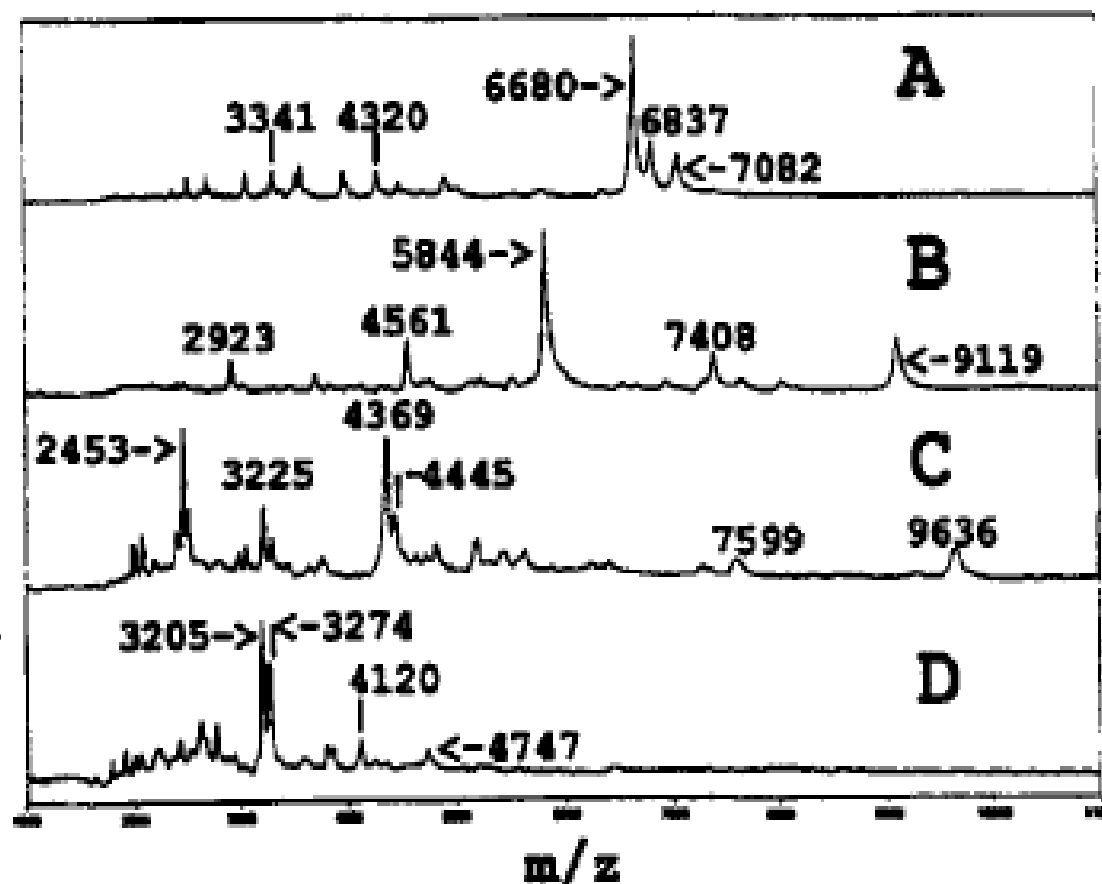
T. Krishnamurthy,* P. L. Ross and U. Rajamani
U.S. Army Edgewood RD&E Center, APG, MD 21010-5423, USA

Bacillus anthracis

Brucella melitensis

Yersinia pestis

Francisella tularensis

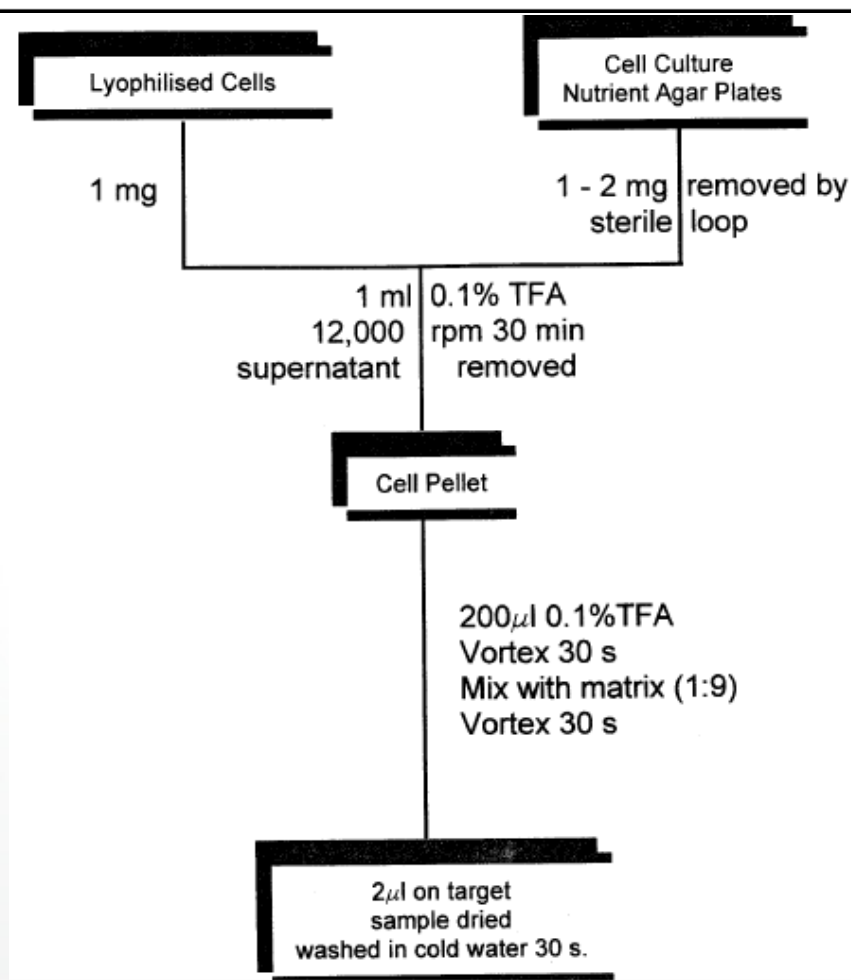
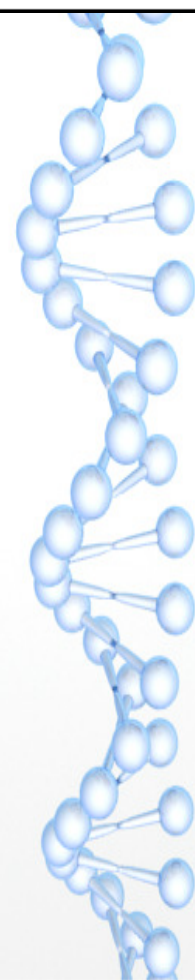


The Characterization of Micro-organisms by Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-flight Mass Spectrometry

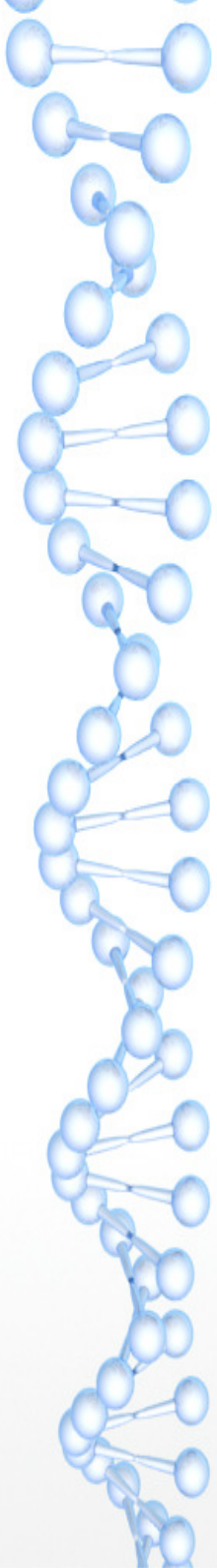
Kevin J. Welham,^{1*} Mark A. Domin,¹ D. Eoin Scannell,¹ E. Cohen² and David S. Ashton¹

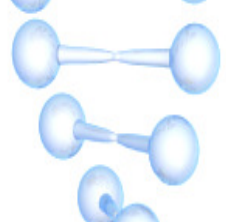
¹ULIRS Mass Spectrometry Laboratory, Department of Pharmaceutical and Biological Chemistry, The School of Pharmacy, University of London, 29-39 Brunswick Square, London WC1N 1AX, UK

²Faculty of Pharmacy, University of Lyon, Lyon, France.



Hangi Bakteriler Analiz Edilebilir?

- 
- Gram ☐ pozitif koklar
 - Stafilokok, streptokoklar
 - Enterobacteriaceae
 - *Escherichia coli*
 - *Yersinia enterocolitica*
 - *Erwinia* türleri
 - *Salmonella enterica*
 - Non fermenter bakteriler
 - *Campylobacter*
 - *Helicobacter pylori*
 - *Aeromonas*
 - *Haemophilus influenzae*
 - *Streptococcus pneumoniae*
 - *Streptococcus agalactiae*
 - *Bartonella henselae*
 - Neisseria, Listeria, mikobakteri
 - Antibiyotik direncinin dakikalar içinde belirlenmesi



Anal. Chem. **2000**, 72, 1217–1223

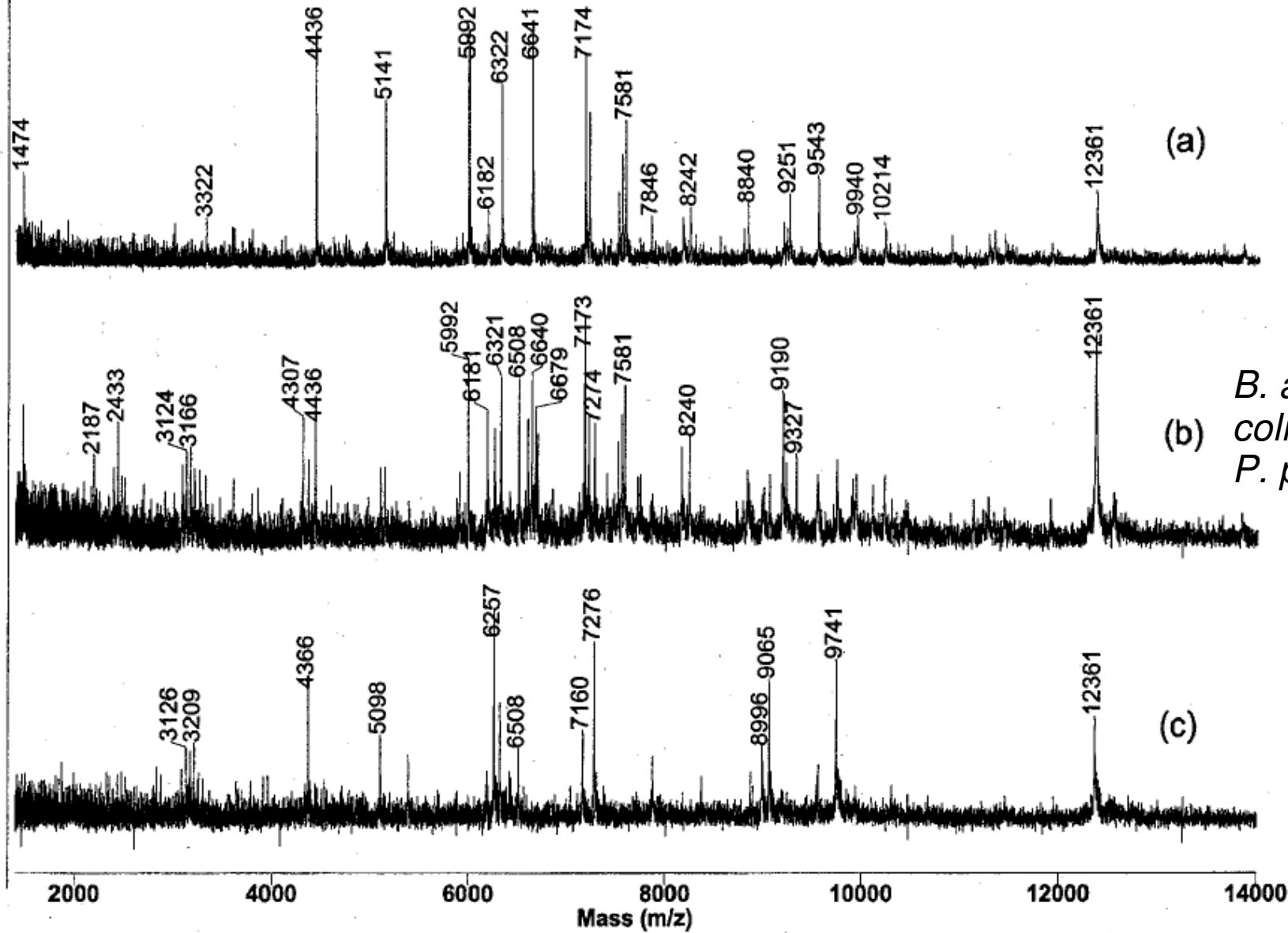
An Algorithm for Automated Bacterial Identification Using Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry

Kristin H. Jarman,* Sharon T. Cebula, Adam J. Saenz, Catherine E. Petersen, Nancy B. Valentine, Mark T. Kingsley, and Karen L. Wahl



>%90 doğru tanımlama

Relative Abundance



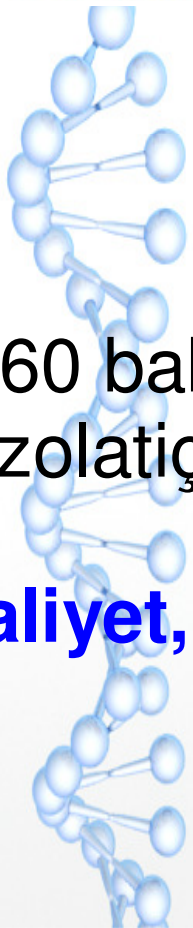
Ongoing Revolution in Bacteriology: Routine Identification of Bacteria by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry

Piseth Seng,^a Michel Drancourt,^a Frédérique Gouriet, Bernard La Scola, Pierre-Edouard Fournier, Jean Marc Rolain, and Didier Raoult^{1*}

Clinical Infectious Diseases 2009;49:543–51

1660 bakteri izolatının **%95.4 doğru** tanımlanmış
1 izolatiğin 6 dakika

Maliyet, konvansiyonel fenotipik tanımlamanın **%22-32**





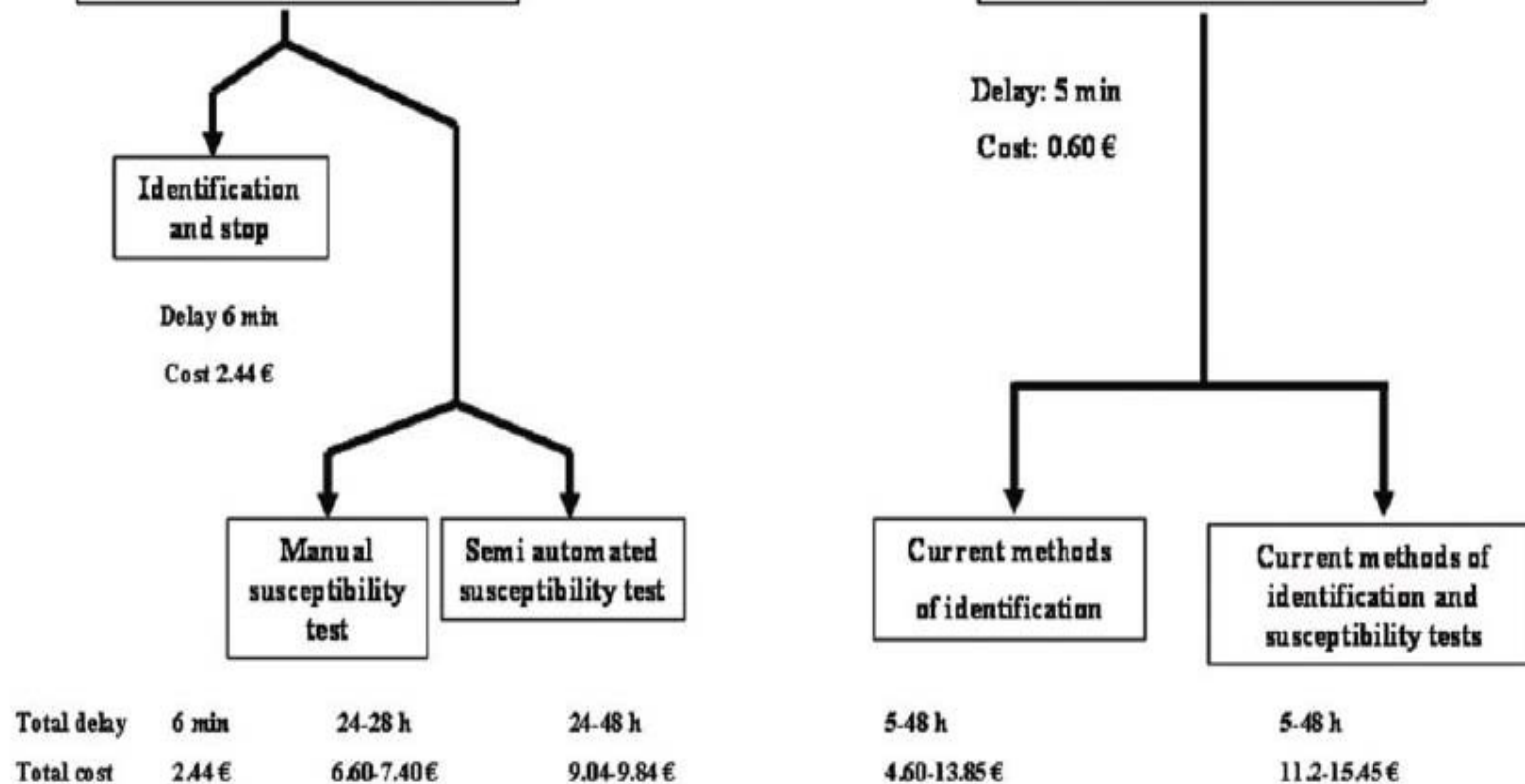
COLONY



MALDI-TOF



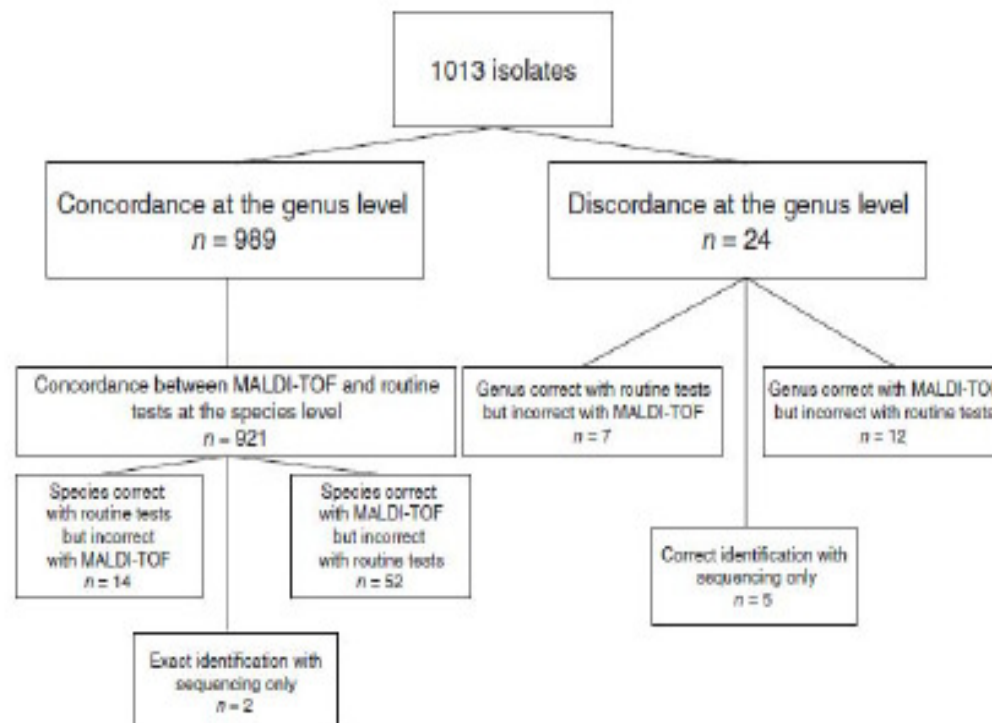
GRAM-STAINING



Matrix-assisted laser-desorption/ionization BIOTYPER: experience in the routine of a University hospital

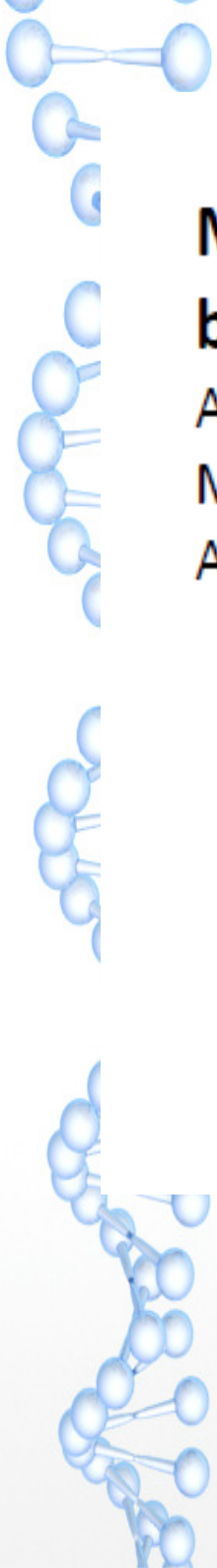
E. Bessède^{1,2,3}, M. Angla-gre¹, Y. Delagarde¹, S. Sep Hieng¹, A. Ménard^{1,2,3} and F. Mégraud^{1,2,3}

Mayis 2010



MALDI-TOF %99

Fenotipik yöntem %98



MALDI-TOF Mass Spectrometry identifies 90% of bacteria directly from Blood Culture vials

Authors: Wardi Moussaoui¹, Benoit Jaulhac¹, Anne-Marie Hoffmann¹, Markus Kostrzewa², Philippe Riegel¹, Gilles Prévost^{1*}
Agustos 2010

MALDI-Biotyper

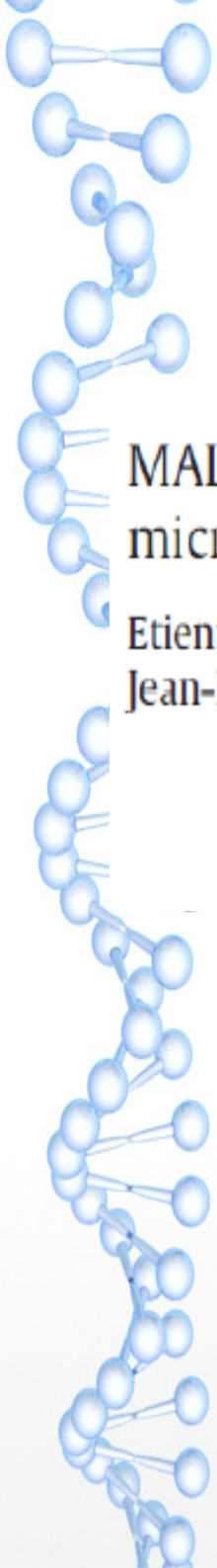
213 Gram (-) 193

% 91.08

319 Gram (+) 284

%89.02

(*Streptococcus pneumoniae*- *S.mitis*)



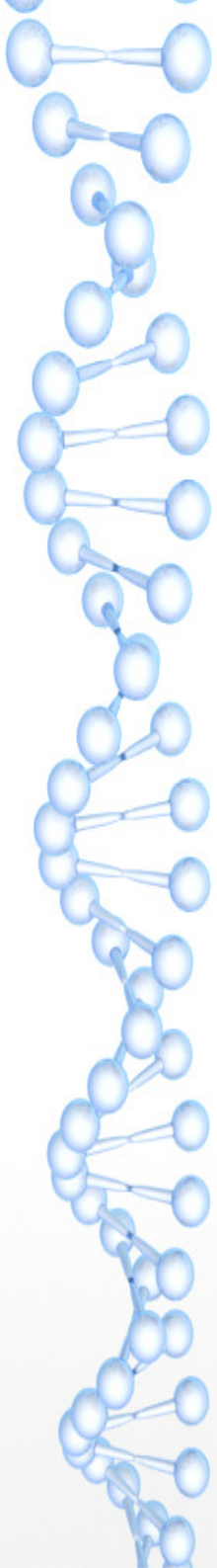
MALDI-TOF mass spectrometry tools for bacterial identification in clinical microbiology laboratory

Etienne Carbonnelle^{a,c,*}, Cécile Mesquita^a, Emmanuelle Bille^{b,c}, Nesrine Day^a, Brunhilde Dauphin^d, Jean-Luc Beretti^b, Agnès Ferroni^b, Laurent Gutmann^{a,c}, Xavier Nassif^{b,c}

Clinical Biochemistry 2010

Summary of major studies using MALDI-TOF for bacterial identification. GN: Gram negative, GP: Gram positive.

Authors	Sample		Id species level	Id genus level	Main identification difficulty	Comments
Seng et al. [32]	Routine (n = 1660)	all routine samples	83.8%	95%	<i>Propionobacterium acnes</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> , <i>Shigella</i> sp.	First line method of identification
van Veen et al. [36]	Routine (n = 980)	all routine samples	92%	98.8%	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , anaerobic bacteria	
Blondiaux et al. [37]	Routine (n = 362)	all routine samples	72.9%	87%	viridans streptococci group, <i>Shigella</i> sp.	
Prod'homme et al. [42]	Blood (n = 126)	positive blood culture	77.8%, GN: 89.1%, GP: 71.6%	78.7%, GN: 89.1%, GP: 72.9%	<i>Streptococcus mitis</i> group, <i>Staphylococcus</i> sp.	The presence of a capsule explain partially the low identification rate of <i>S. pneumoniae</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>K. pneumoniae</i>
La Scola et al. [43]	Blood (n = 599)	positive blood culture	76%	76%	<i>Streptococcus</i> sp., polymicrobial samples	
Stevenson et al. [44]	Blood (n = 212)	positive blood culture (179), spiked bottles (33)	80.2%	80.2%	<i>Streptococcus mitis</i> group, <i>Propionobacterium acnes</i>	
Ferroni et al. [45]	Blood (n = 685)	positive blood culture (388), spiked bottles (312)	89%	98%	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Streptococcus mitis</i> group	For mixed culture, most abundant germ was in most cases identified. Fast method
Christner et al. [46]	Blood (n = 277)	positive blood culture	94.2%	95%	Cocci Gram +	Mismatching mostly resulted from insufficient bacterial count and occurred preferentially with Gram +
Ferreira et al. [47]	Blood (n = 300)	positive blood culture	42.6%, GN: 83.3%, GP: 31.8%	71.6%, GN: 96.6%, GP: 65.7%	<i>Streptococcus mutans</i> , <i>Staphylococcus</i> sp., <i>Staphylococcus aureus</i>	No mixed culture
Ferreira et al. [48]	Urine (n = 220)	positive urine samples	91.8%, GN: 93.6%, GP: 66.6%	92.7%, GN: 94.6%, GP: 66.6%	<i>Streptococcus</i> sp., <i>Enterococcus</i> sp., <i>Raoultella</i> sp.	Best results with high bacterial account > 10 ⁵ CFU/mL, <i>E. coli</i> > 10 ⁵ CFU/mL: 97.6% correct id rate, 5 mixed cultures: 3 identifications



MALDI-MS ile Küf Tanısı

Filamentli funguslar

Penicillium

Aspergillus

Fusarium

Trychophyton rubrum

T. interdigitale,

T. tonsurans

Arthroderma benhamiae

MALDI-TOF Mass Spectrometry for fast and accurate identification
of clinically relevant *Aspergillus* species

Alexandre Alanio¹, Jean-Luc Beretti¹, Brunhilde Dauphin¹, Emilia Mellado², Gilles
Quesne¹, Claire Lacroix³, Anouar Amara¹, Patrick Berche¹, Xavier Nassif¹, Marie-Elisabeth
Bougnoux^{1*} Haziran, 2010

140 izolat (138) %98.6



MICROORGANISMS DIRECT IDENTIFICATION FROM BLOOD CULTURE BY MALDI-TOF MASS

SPECTROMETRY.

Laura Ferreira^{1*}Fernando Sánchez-Juanes^{1*}Isabel Porras Guerra²

M^a Inmaculada García García² José Elías García Sánchez²

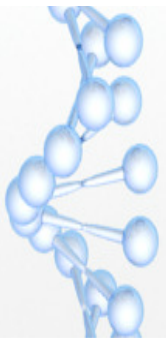
José Manuel González-Buitrago^{1,4#}Juan Luis Muñoz Bellido^{2,5#}

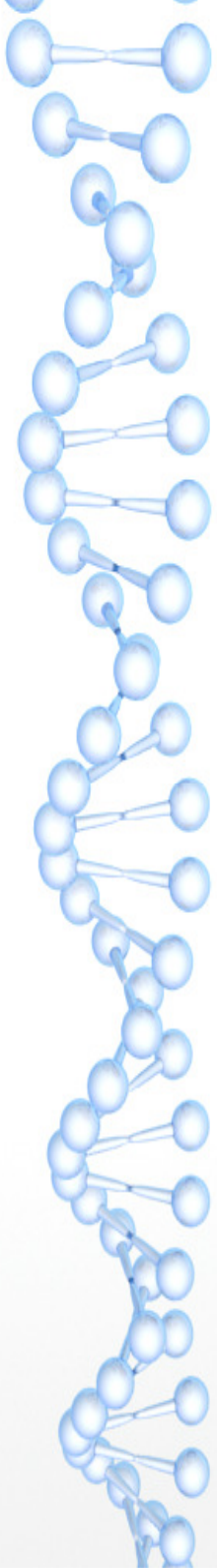
Nisan 2010

Gram (-) %96.6

Gram (+) %65.7

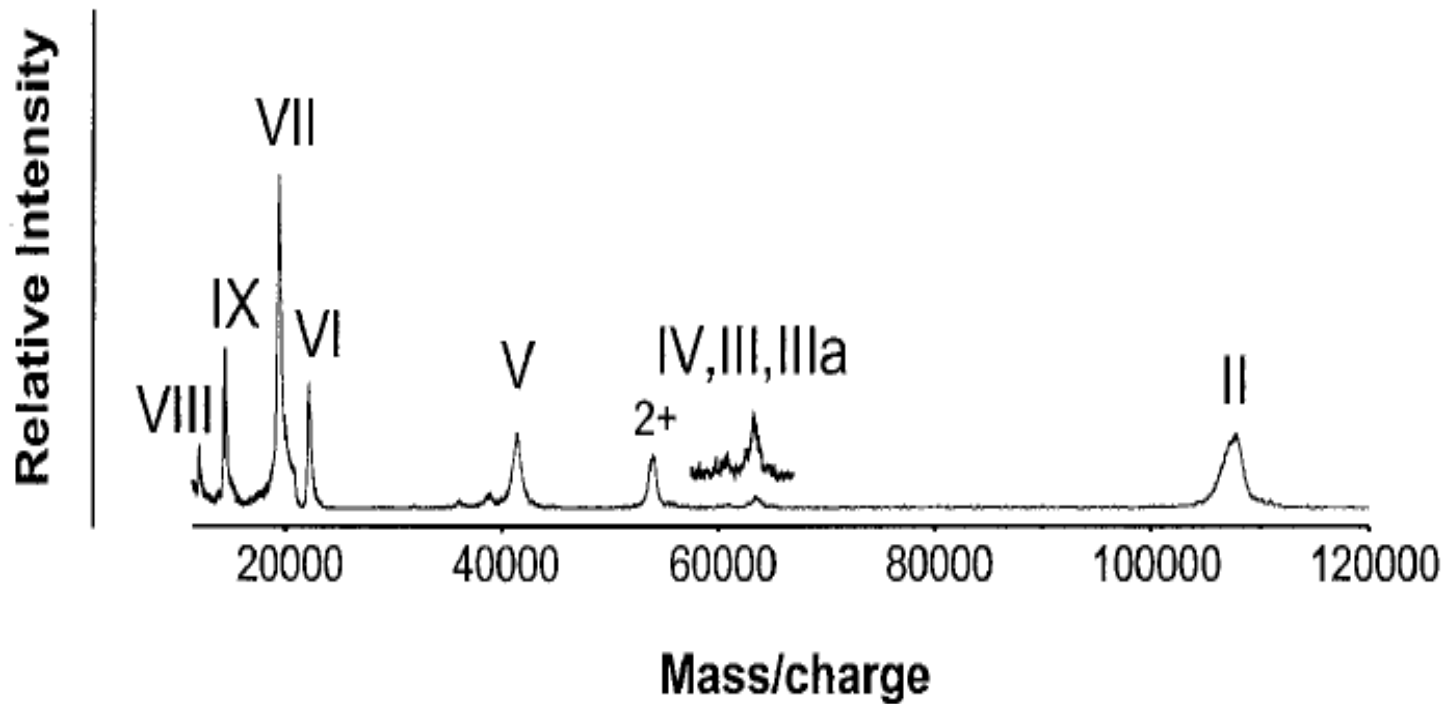
İnvaziv fungal enfeksiyonlarda üzerinde çalışılmalı





MALDI-MS ile Virus Tanısı

- Viral yapısal proteinlerin belirlenmesi
- Gen terapi için değiştirilen viral vektörlerin izlenmesi
- Terapötik gen ve ekspresyon ürününün belirlenmesi



Adenovirus yapı proteinleri

Yao X, Freas A, Ramirez J, Demirev PA, Fenselau C. 2001. Proteolytic O-18 labeling for comparative proteomics: model studies with two serotypes of adenovirus. *Anal Chem* 73:2836±2842.

SONUÇ

MALDI-TOF MS Yöntemi:

- *Bakteri tanısında klasik biyokimyasal ve genetik esaslı yöntemleri dışında, doğruluk oranı ve tekrarlanabilirliği yüksek*
 - *Hızlı; dakikalar içinde sonuç alınabilen*
 - *Maliyet etkin*
 - *Antimikrobiyal direnç*
 - *İlaç hedefleri*
- *Küfler çalışmalarında*
- *Viruslarla yapılan çalışmalarda da kullanılabilen bir tekniktir.*