



8 èmes JNI, Dijon, 13-15.06.2007

Spectrométrie de masse et identification des micro-organismes

Gilles PREVOST*, avec les contributions de :

Wardi Moussaoui , Philippe Riegel, Jean-Michel Scheftel : Bactériologie EA-3432, ULP-HUS Strasbourg
François Delalande, Sarah Sanglier, Angela Gonzalez, Alain van Dorsseleer : UMR-7178 – CNRS-ULP, Strasbourg

* 3 rue Koeberlé, 67000 Strasbourg, 03 90 24 37 57, gilles.prevost@medecine.u-strasbg.fr



**Faculté de
Médecine**



Enjeux et spécificité de l'identification microbienne

Enjeux I : Etiquetage rapide et précis des infections

Soin du patient, contrôle des épidémies, épidémio-vigilance

Choix de l'antibiogramme / antibiothérapie

Spécificité : Biodiversité des microorganismes

→ **grande variété des tests = identifications**

→ **activité très spécialisée**

Enjeux II : Rationalisation des coûts d'hospitalisation

de revient des analyses

des personnels

de l'espace d'analyse !

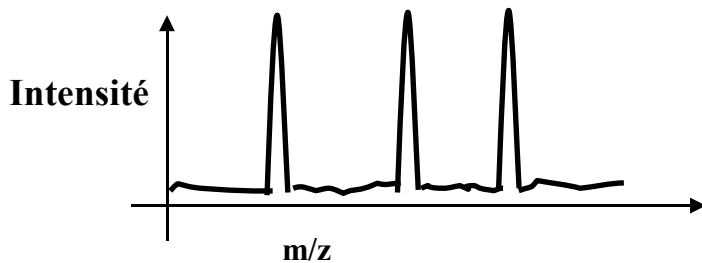
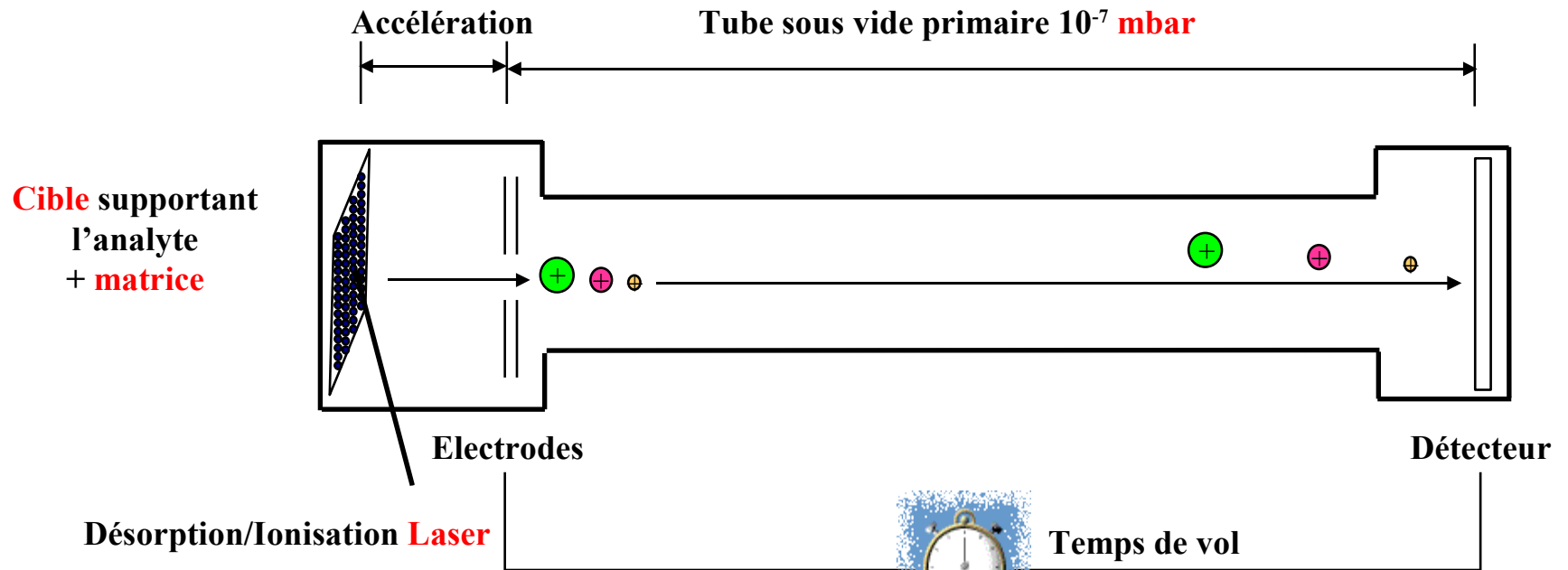


AUTOMATISATIONS ??

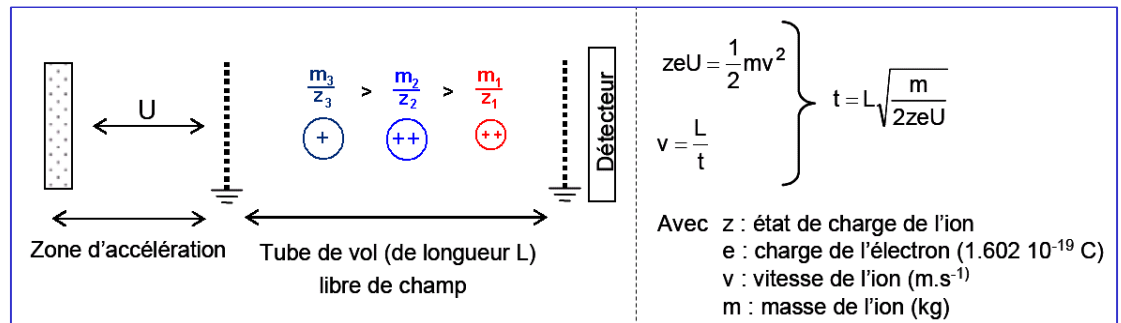
Automatisations : Principes et Limites

	Rap.	Se.	Sp.	Univ.	Deb.	Coût
Prélèvements diagnostiques						
... PCR (ARN 16S/18S/ 23S/ 28S)	+/-	+/-	++	++	++	-
... Puces à ADN	+/-	+/-	+++	++	++	--
Primocultures						
API®	+/-	++	++	+/-	+	+
Car. Biochimiques	++	+	+	+	+	+
Spectroscopie infrarouge	+	?	+/-	+	?	+
Méth. Fluorimétriques	+/-	+	++	+/-	+/-	-/+
PCR (ARN 16S/18S/ 23S/ 28S)	+/-	+/-	++	++	++	-
Puces à ADN	+/-	+/-	+++	++	++	--
SM : MALDI-TOF	+++	++	++	++	++	++
	À démontrer !					

Spectrométrie de Masse

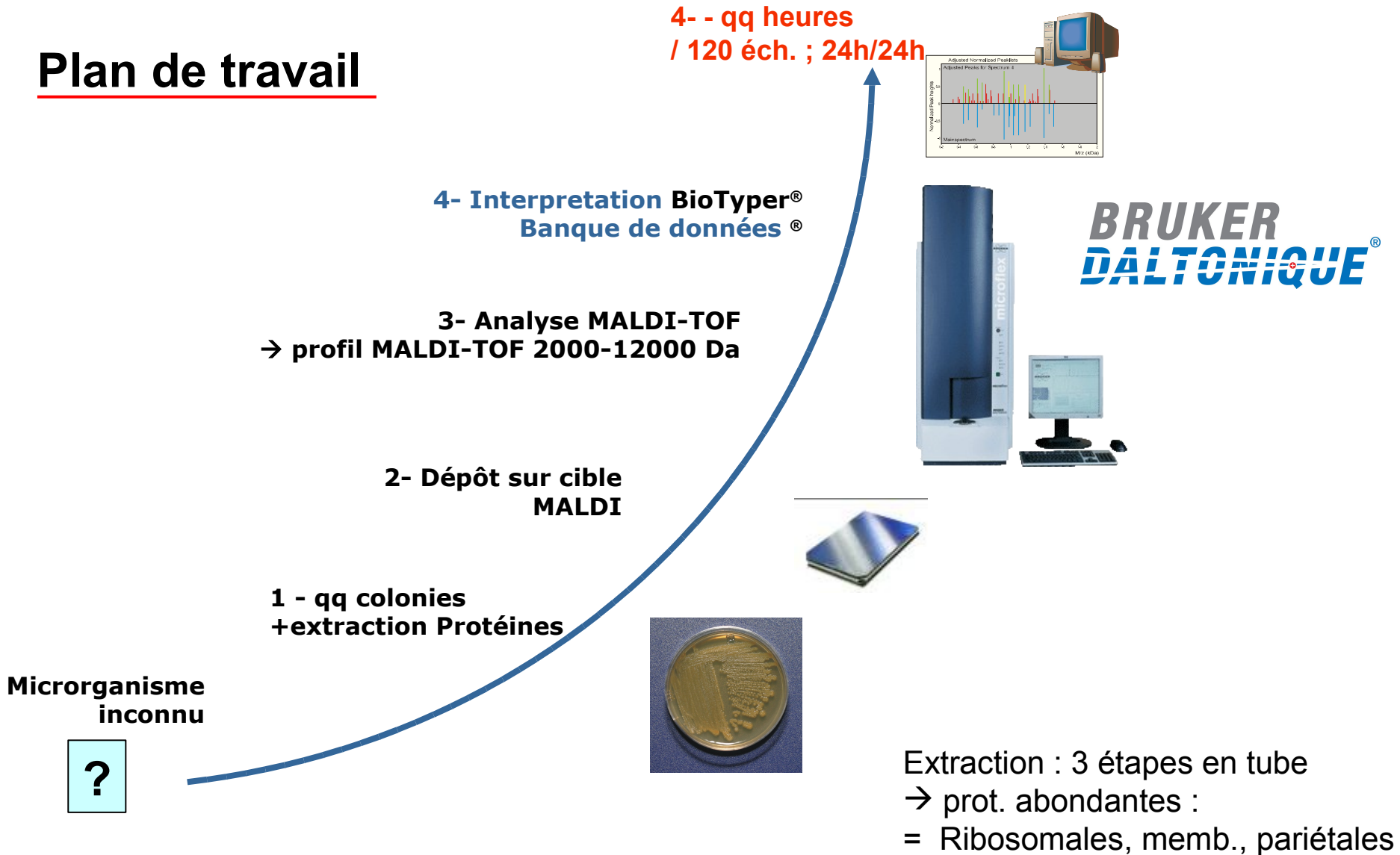


Adapté de: Lottspeich, Zorbas, eds
 "Bioanalytik", Spektrum Akademischer Verlag, 1998



Identification bactérienne – spectrométrie de masse

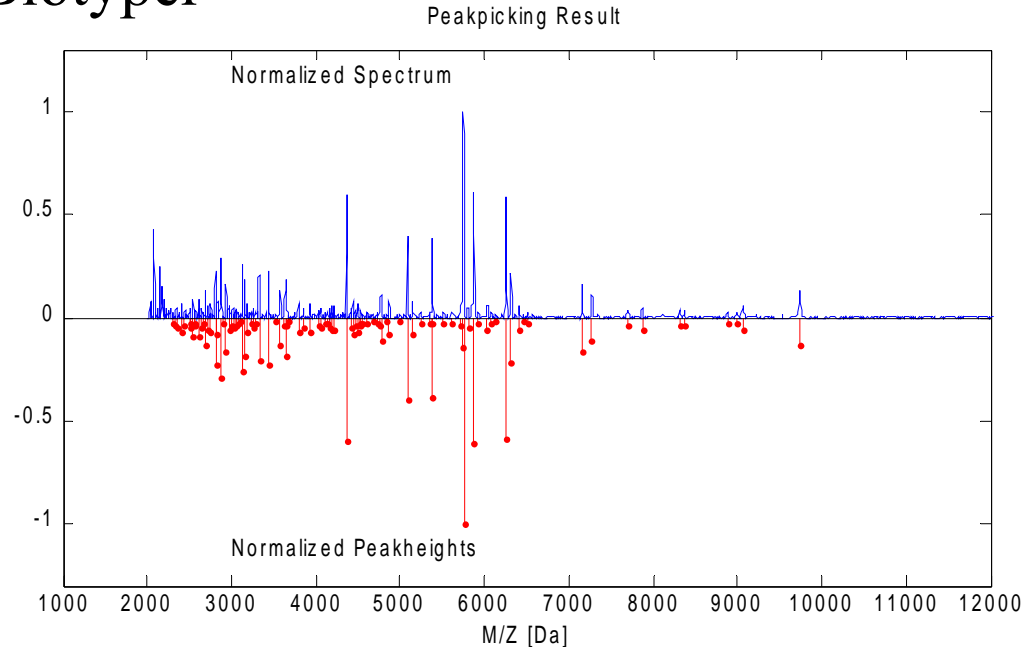
Plan de travail



Acquisition – analyse des spectres

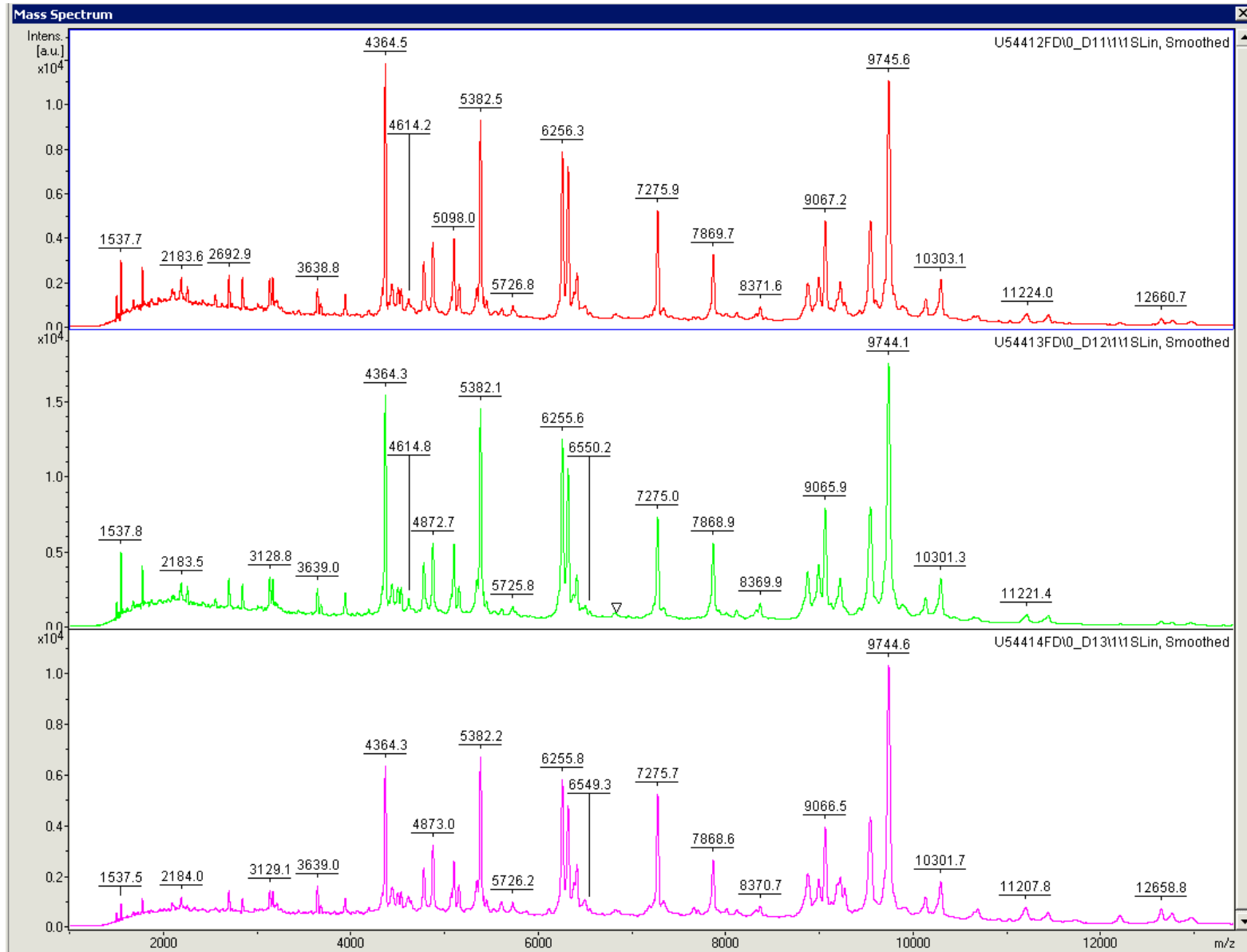
ClinProt® → Biotyper®

BRUKER
DALTONIQUE®



- **Analyse des spectres :**
 - **Lissage, correction des lignes de base, normalisation - validation des pics**
 - **Algorithmes multiples à chaque étape...**
 - **Paramètres ajustables (e.g. nombre de pics, S/N, intensité, masses considérées, etc....)**

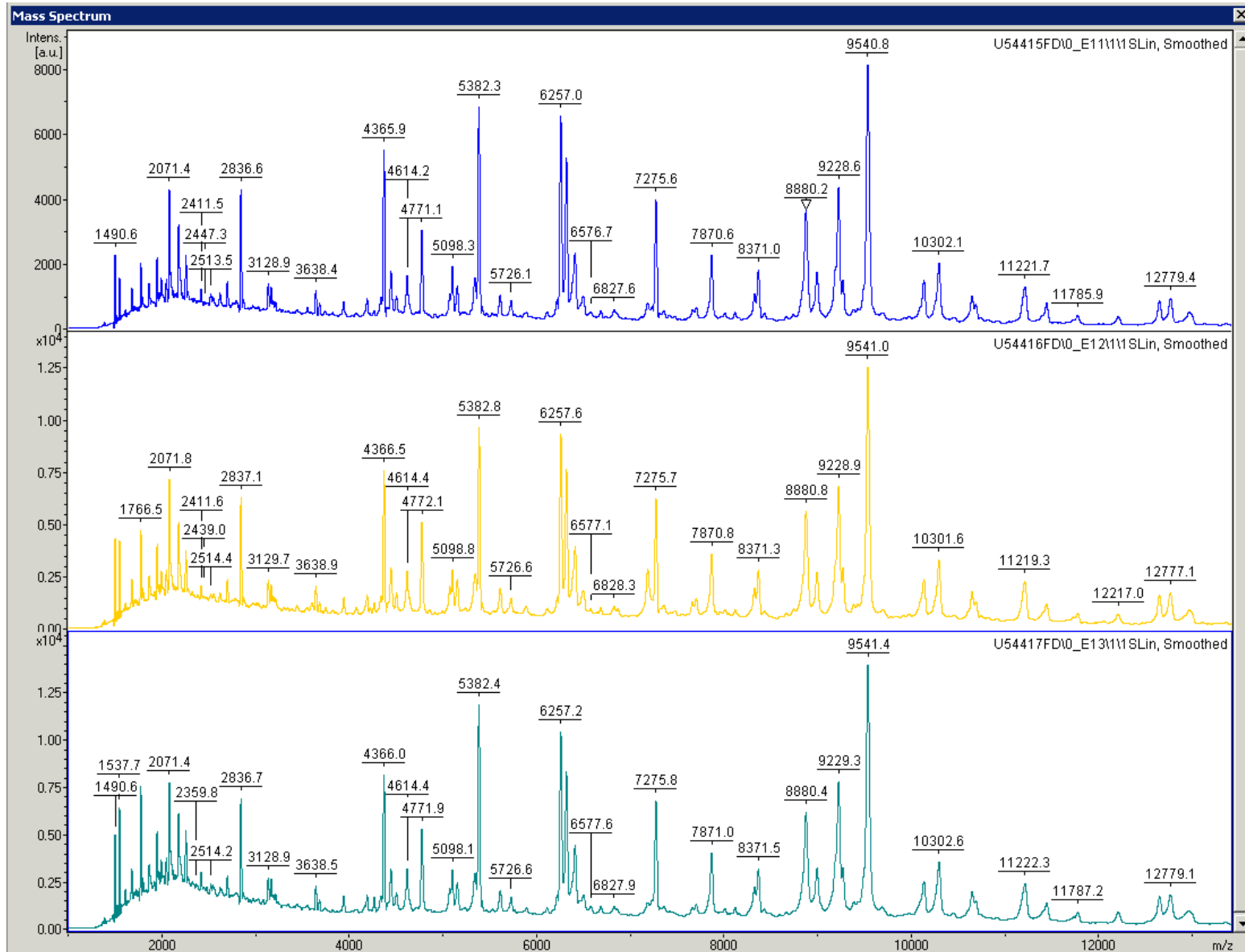
Répétabilité



BL21 tube 1 déposé en triplicate, (20 fois 50 tirs)

E. coli

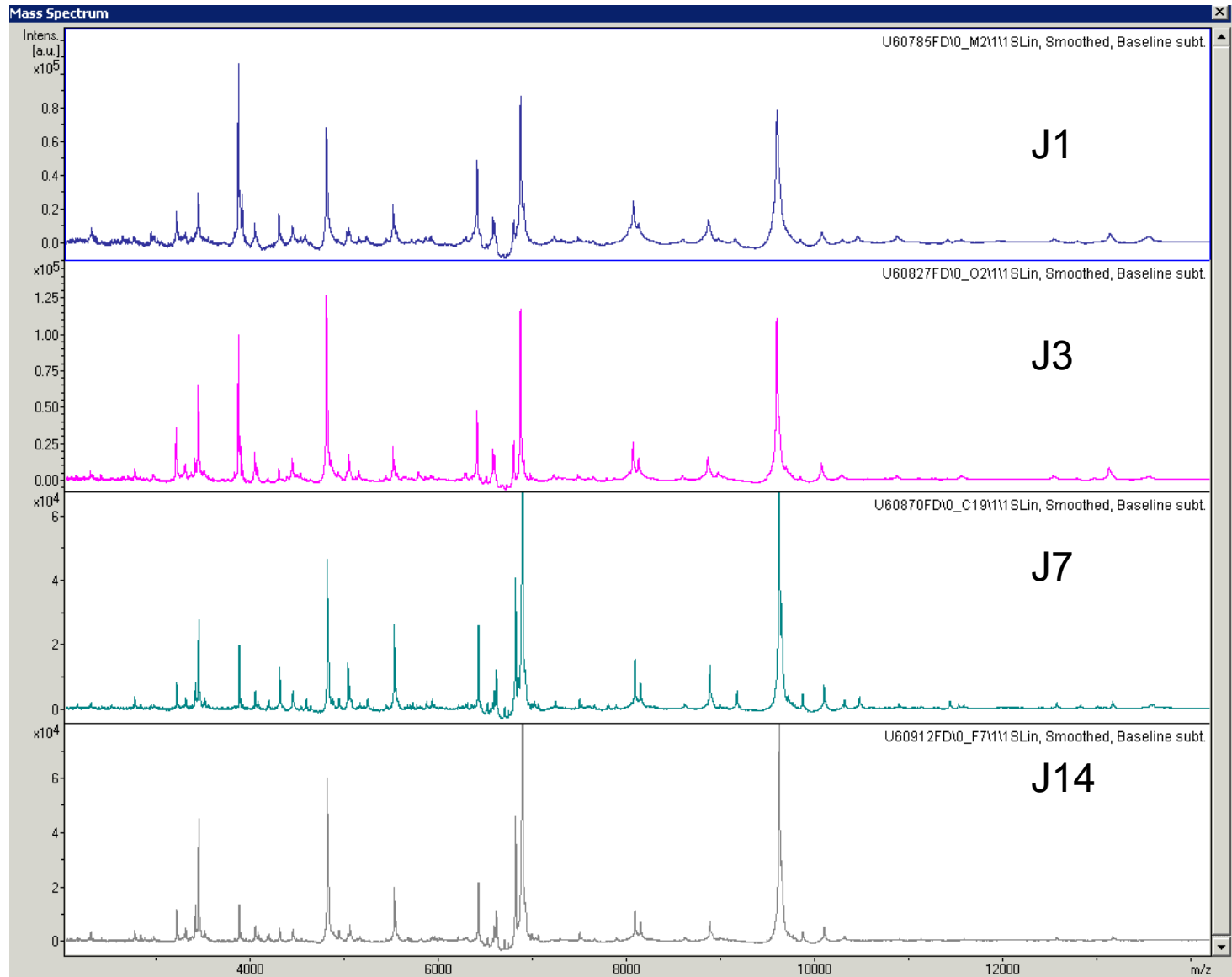
Répétabilité



BL21 tube 2 déposé en triplicate, (20 fois 50 tirs)

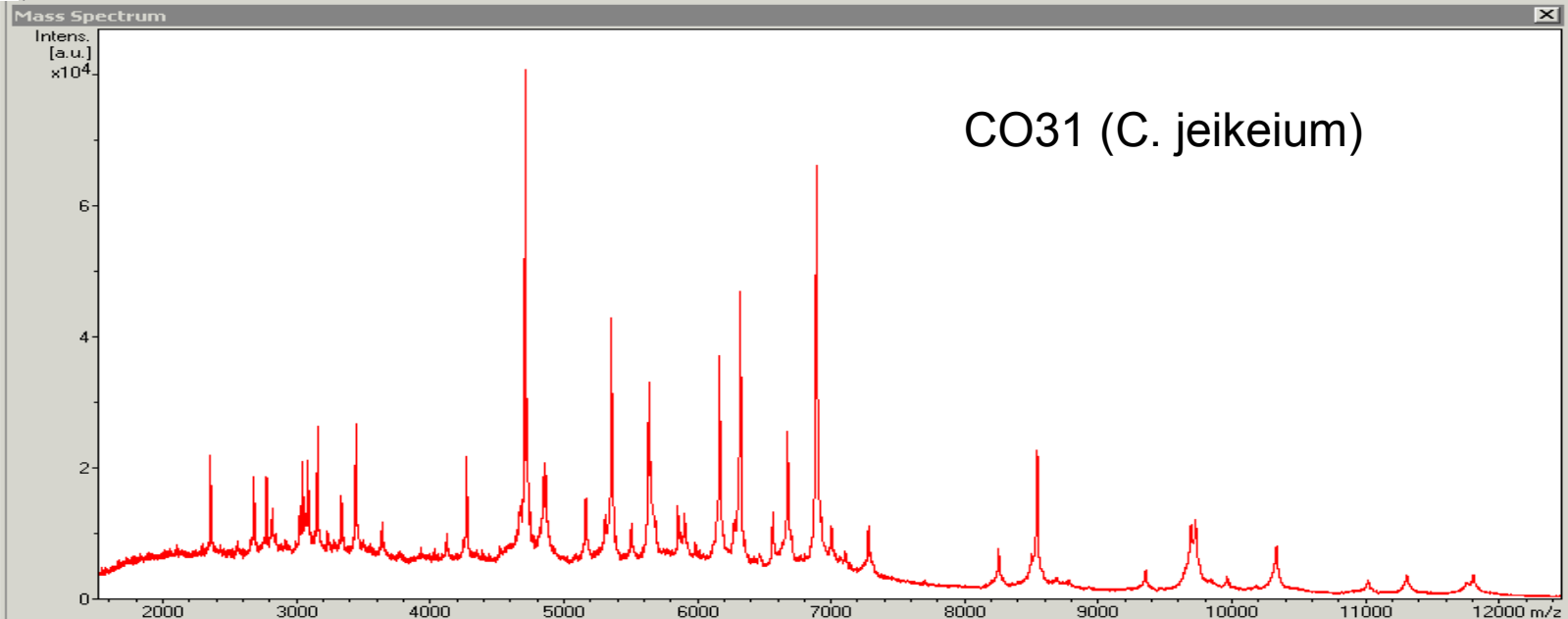
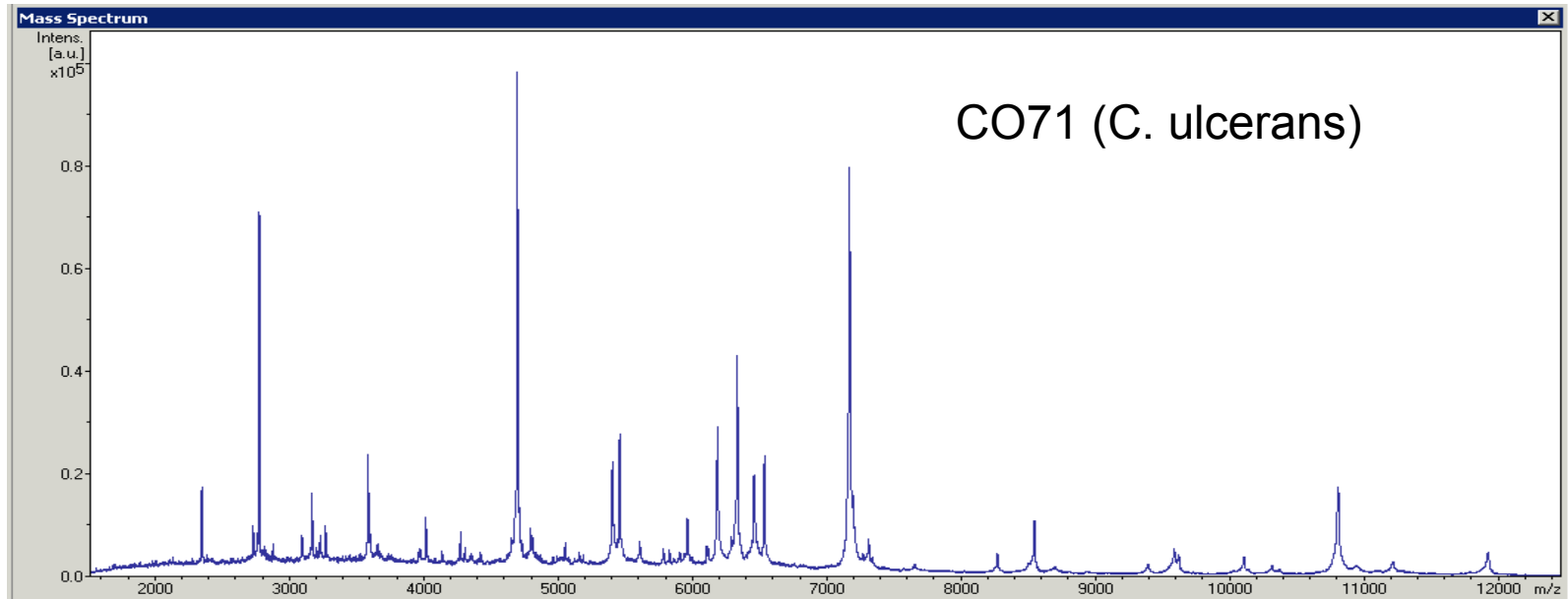
E. coli

Reproductibilité *Staphylococcus aureus*



Reproductibilité cinétique (souche 3223)

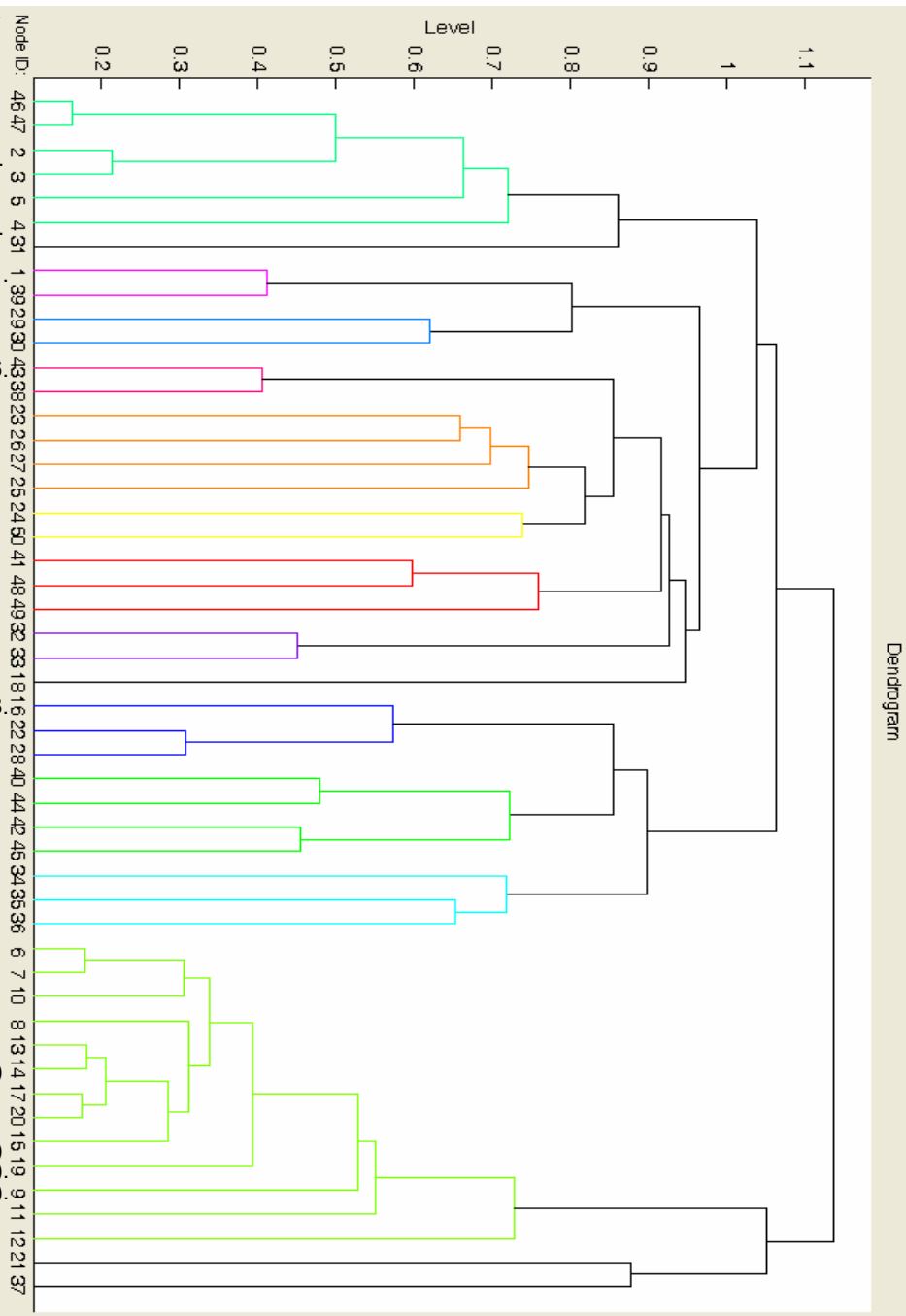
Identification *Corynebacterium* spp



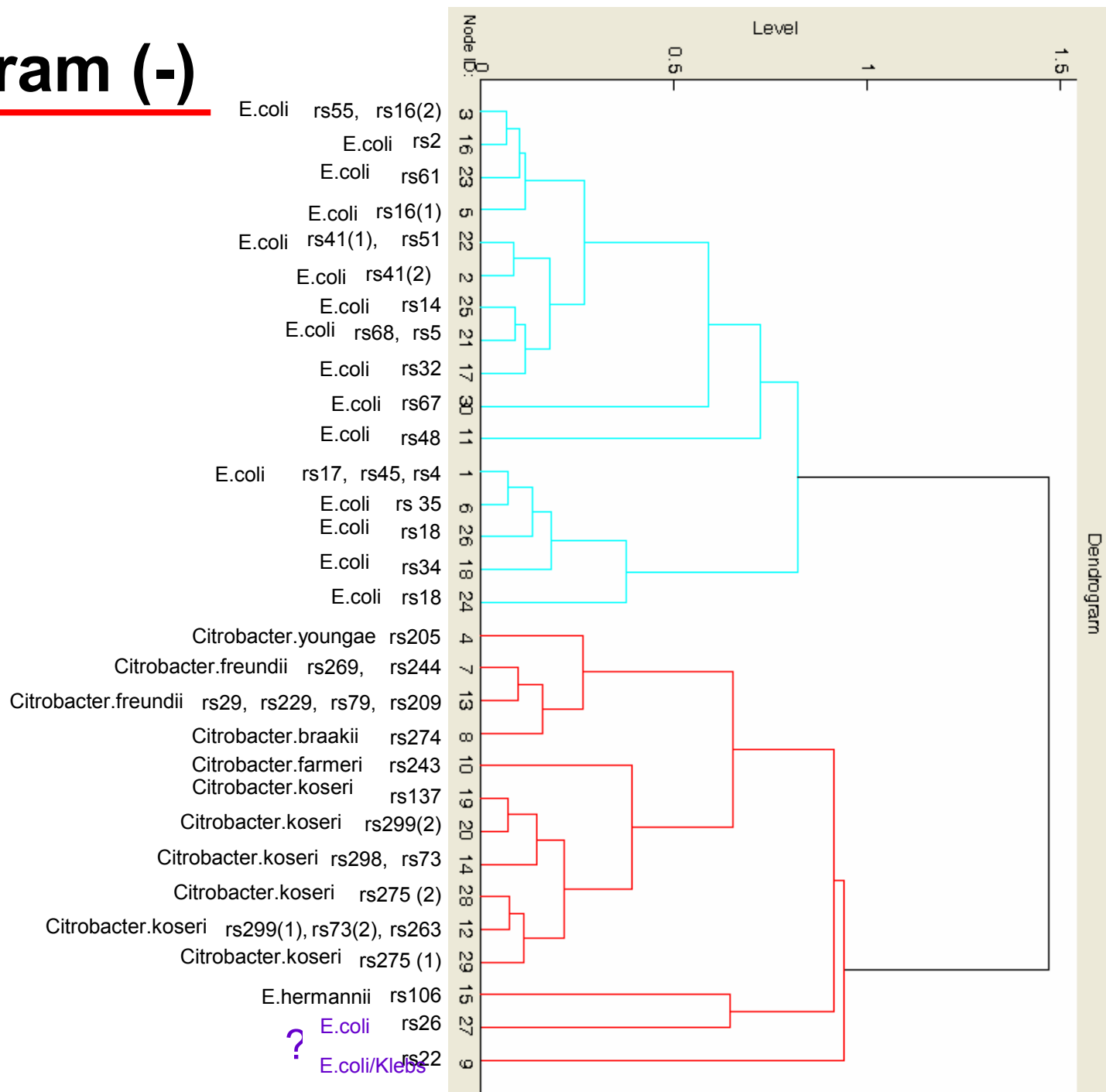
Corynebacterium : 17 espèces, 111 souches

urealyticum CO17.
 jeikeium, urealyticum CO31.CO34.CO33CO28CO26CO27.CO17(2)
 jeikeilum CO29.
 jeikeilum CO30
 jeikeilum CO35
 jeikeilum CO32.
 CDC F1 CO84
 seminale CO05.CO04.CO03.CO02CO01.
 pseudodipht CO110.CO109.CO98.CO97. CO96.CO95
 propinquum CO81.CO80
 propinquum CO83. CO82
 urealyticum CO23.CO25.CO22CO21.CO20CO18CO16.
 urealyticum CO19.
 afermentans CO77.CO72
 afermentans CO78
 afermentans CO79
 afermentans CO76
 afermentans CO75. CO74. CO73
 argentoratensae CO112.CO111
 amycolatum CO101.CO100
 amycolatum CO106.CO105
 amycolatum CO108
 (accolens)/ CO85: macgin; /CO91CO90CO89CO87. CO86. CO85
 accolens CO88
 dipht CO52
 striatum CO07CO08.
 striatum CO15CO14CO13.CO10. CO09
 striatum CO11CO12
 minutissimum CO99
 minutissimum CO103
 minutissimum CO107.CO102
 minutissimum CO104
 CDC G1 CO92
 CDC G1 CO93
 CDC G1 CO94
 dipht CO37. CO36
 dipht CO39. CO38
 dipht CO43.CO42(1).
 dipht CO41. CO40
 dipht CO54. CO48
 Dipht // urealyticum CO24(2).CO56. CO49(2)
 dipht CO58CO55(2)CO53.CO50
 dipht CO57
 dipht CO49(1)
 dipht CO55(1).
 Dipht // urealyticum CO24(1).CO42(2).
 dipht CO4 CO46.CO44
 dipht CO51.CO47
 Ulcerans// Pseudotuber / CO71.CO70.CO65.CO69.CO68.CO67.CO66
 pseudotuber CO64. CO63. CO62.CO61.CO60.CO59

50 noeuds



Bacilles Gram (-)



Marqueur épidémiologique ?? : *Staphylococcus aureus*



CONCLUSION

- √ **Spectrométrie de masse : grand intérêt naissant !
technologie, bonne pratique, qualité banque de données**
- √ **Equipement, faible coût d'exploitation, rapidité, fiabilité**
- √ **Technologie transversale → inter-services, inter-sites !!
→ bactériologie, mycologie, parasitologie**
- √ **Identifications microbiennes, épidémiologie,
biomarqueurs -> reconnaissance de souches particulières**