

Klassifizierung und Identifikation von Bakterien durch MALDI-TOF MS

J.Heim¹, N.Schürch², M.Schär², V.Luginbühl¹

Einleitung

Mitte der neunziger Jahre wurde die Massenspektrometrie für die Identifikation von Bakterien entdeckt [1]. Eine Methode zur raschen Identifikation von Bakterien ist die Matrixunterstützte Laser-Desorption/ Ionisation Flugzeitmassenspektrometrie (MALDI-TOF MS). Die mit MALDI-TOF MS erzeugten Spektren werden mit einer Datenbank (SARAMIS (2)) analysiert. Die Datenbank ermöglicht die Identifikation und die Klassifikation von Bakterienstämmen.

Ziel

Ziel dieser Arbeit war die Überprüfung der Robustheit der Datenbank SARAMIS, die eine Identifikation von Bakterien durch MALDI-TOF MS erlaubt. Im weiteren wurden 100 Stämme der Gattung *Yersinia* klassifiziert.

Vorgehen

Robustheitsüberprüfung: Die Robustheitsüberprüfung erfolgte bei unterschiedlichen Kultivationsbedingungen von ausgewählten Bakterienstämmen, welche anschliessend mit MALDI-TOF MS analysiert und mit SARAMIS identifiziert wurden. Ebenso wurde der Einfluss der Trifluoressigsäure (TFA)-Inaktivierung auf die Identifikation überprüft.

Klassifizierung: Zur Klassifizierung wurden *Yersinia*-Stämme auf Agarplatten kultiviert und mit MALDI-TOF MS gemessen (Massenspektren). Die erzeugten Massenspektren wurden in SARAMIS als Dendrogramm (Stammbaum) dargestellt.

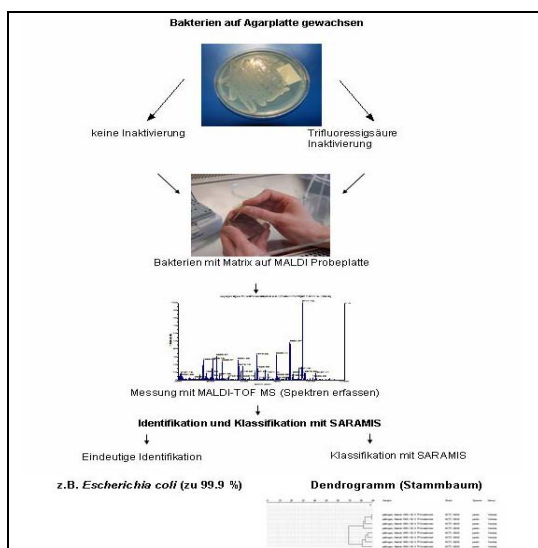


Abb.1: Allgemeiner Ablauf von der Kultivierung bis zur Identifikation bzw. Klassifikation

Ergebnisse

Robustheitsüberprüfung: Die Analyse von ausgewählten Stämmen zeigt, dass SARAMIS noch lückenhaft ist. Deshalb konnten nicht alle getesteten Bakterienstämme identifiziert werden (z.B. *Vibrio cholerae*). Mit den Robustheitsversuchen wurde festgestellt, dass längere Kultivationszeiten tendenziell zu besseren Identifikations-

ergebnissen führen. Die TFA-Inaktivierung führt zu veränderten Peptidgemischen. In Abb. 2 sind zwei Massenspektren von *Escherichia coli* (JM 109 aus pGem Cloning Kit) einmal mit und einmal ohne TFA Inaktivierung, dargestellt.

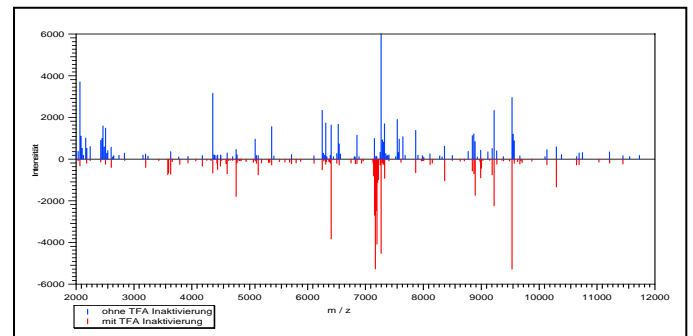


Abb.2: MALDI Massenspektren (positive Ionen) von *Escherichia coli* (JM 109 aus pGem Cloning Kit) mit und ohne TFA-Inaktivierung. Als Matrix wurde 2,5-Dihydroxybenzoesäure verwendet

Klassifizierung: Die Klassifikation von *Yersinia*-Stämmen hat eine klare Trennung der einzelnen Spezies ergeben. Der Unterschied von *Yersinia pestis* und *Yersinia pseudotuberculosis* beträgt 1 %. Die beiden Spezies bilden zusammen eine Gruppe. Jedoch unterscheiden sich zwei der vier gemessenen *Yersinia pestis* Stämme um 10 % von der genannten Gruppe.

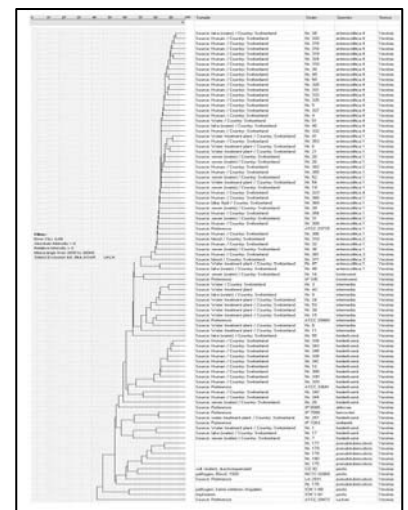


Abb.3: *Yersinia*-Stammbaum

Schlussfolgerungen

Robustheitsüberprüfung: Die Datenbank weist noch Lücken auf und muss durch entsprechende Massenspektren ergänzt werden. Für eine robuste Identifikation mit SARAMIS sind Massenspektren von unterschiedlichen Kultivationsbedingungen, sowie von TFA-inaktivierten Bakterienstämmen erforderlich.

Klassifizierung: *Yersinia* lassen sich durch MALDI-TOF MS klassifizieren. Die meisten Spezies lassen sich klar trennen. Die Trennung von *Yersinia pestis* und *Yersinia pseudotuberculosis* hingegen ist mit 1 % gering.

Quellen

- [1] Wilkins, Ch. et. al. (2006): Identification of Microorganisms by Mass Spectrometry. 1. Auflage. Wiley-VCH, Weinheim
- [2] www.anagnostec.de