

Inka Harju ja Juha O. Grönroos

Huomattava apu potilaille ja klinikoille

MALDI-TOF-massaspektrometria kliinisessä mikrobiologiassa

Kuluvan vuosikymmenen aikana MALDI-TOF-massaspektrometria (matrix-assisted laser-desorption ionization time-of-flight) on mahdollistanut taudinaiheuttajabakteerien ja -sienten tunnistamisen huomattavasti nopeammin ja luotettavammin kuin biokemiallisilla menetelmillä. Kun bakteerien tunnistus biokemiallisia menetelmiä käyttäen saattaa viedä useita vuorokausia, MALDI-TOF-massaspektrometrialla tunnistus viljelymaljalla kasvavasta pesäkkeestä voidaan tehdä muutamassa minuutissa tai positiivisesta veriviljelypullosta parissakymmenessä minuutissa. Näin kliinisen mikrobiologian laboratorio pystyy antamaan bakteeriviljelyistä tunnistustuloksen hoitavalle yksikölle heti, kun viljelymaljoilla tai veriviljelypulloissa havaitaan kasvua. MALDI-TOF-massaspektrometrian merkittävimpänä rajoituksena on se, että se vaatii edeltävän malja- tai rikastusviljelyn. Lisäksi toisilleen poikkeuksellisen läheistä sukua olevat bakteerit kuten *Escherichia coli* ja *Shigella*, jotka eivät erotu toisistaan bakteeritunnistuksessa usein referenssimenetelmänä käytetyllä 16S rRNA -sekvensoinnilla, ovat vaikeita tunnistettavia myös MALDI-TOF-massaspektrometrialla.

Kliinisen mikrobiologian laboratorioissa pyritään osoittamaan taudinaiheuttajia käyttämällä monia erilaisia menetelmiä kuten mikroskopointia suoraan näytteistä, vasta-aineiden ja mikrobiantigeenien osoitusta, tietyille patogeenisille viruksille, bakteereille, sienille tai loisille tyypillisten geenien osoitusta (nukleiinihappo-osoitusmenetelmät) sekä viljelymenetelmiä. Nukleiinihappo-osoitusmenetelmien kehitys 2000-luvulla on mahdollistanut monien taudinaiheuttajien tunnistamisen suoraan potilasnäytteistä ilman edeltävää viljelyvaihetta (1,2). Suoraan näytteestä tehtävät nopeat nukleiinihappo-osoitustestit soveltuvat erityisesti silloin, jos etsitään vain tiettyjä taudinaiheuttajia, jotka ovat aina tai useimmiten patogeenisiä ihmiselle (kuten tyypillisesti ulostenäytteissä) tai jos tuloksen saaminen nopeasti on keskeistä hoidon oikea-aikaisuuden kannalta (esimerkiksi synnyttäjien *Streptococcus agalactiae* -seulonta, MRSA-seulonta sairaalasiirtojen yhteydessä tai influenssatestaus päivystysyksiköissä epidemia-kaudella).

Usein viljelymenetelmät ovat kuitenkin yhä

tarpeen infektiodiagnostiikassa, etenkin silloin, jos mahdollisten taudinaiheuttajien kirjo on laaja, tai silloin, jos mahdollisiin taudinaiheuttajiin sisältyy myös ympäristössä tai ihmiselimestön normaalimikrobistossa esiintyviä bakteereja tai sieniä. Tällöin viljelymenetelmällä voidaan varmistua siitä, että esimerkiksi steriilin alueen näytteessä todella esiintyy tiettyä mikrobialinkykyisenä. Näin pystytään tunnistamaan tarvittaessa kaikki käytetyllä viljelymenetelmällä kasvamaan kykenevät mikrobit, vaikkei juuri niitä olisi osattukaan tutkimusta tilattaessa epäillä. Viljelymenetelmien keskeinen etu on myös se, että ne mahdollistavat taudinaiheuttajan eristämisen mikrobilääkeherkkyysmäärityksiä ja tarvittaessa tarkempaa tyyppitystä varten. Lisäksi viljelytutkimukset ovat ainakin toistaiseksi merkittävästi halvempia kuin suoraan nukleiinihappo-osoitukseen pohjautuvat tutkimukset.

Viljelymenetelmien haittapuolena on tavanomaisesti ollut niiden hitaus, sillä viljelyvastausten valmistuminen on aiemmin vienyt useita päiviä tai jopa viikkoja (1). Keskeisenä syynä



KUVA 1. MALDI-TOF-massaspektrometri (Bruker Microflex LT).

tähän on ollut se, että bakteerien tunnistuksessa aiemmin yleisesti käytetyt biokemialliset menetelmät vaativat usein 1–2 vuorokautta, anaerobisten bakteerien kohdalla usein pidempäänkin. Niinpä kliinisen mikrobiologian alalla nopeampien mikrobintunnistusmenetelmien kehittäminen on pitkään ollut kiinnostuksen kohteena.

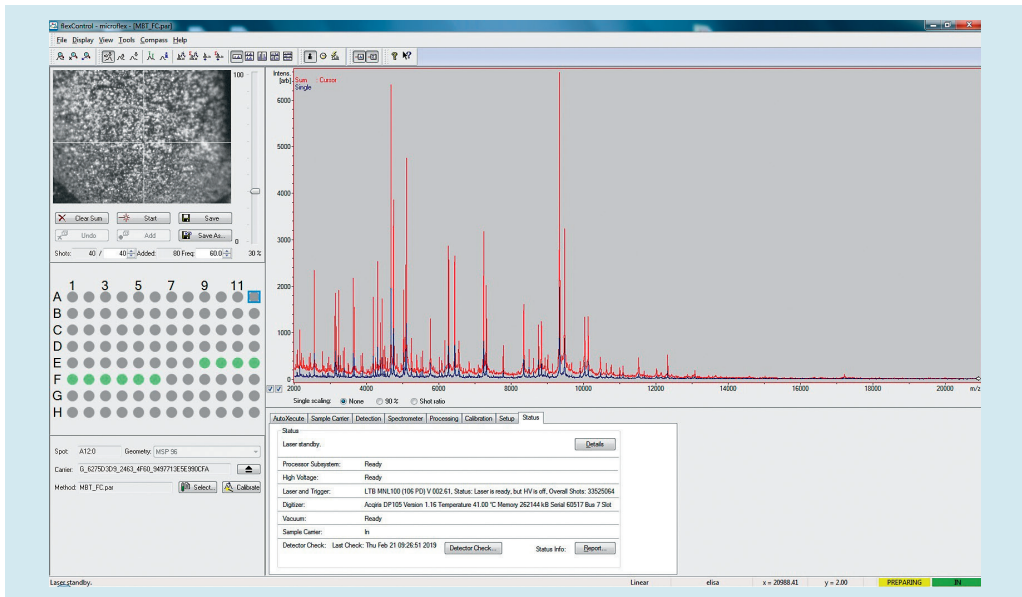
Nukleiinihappo-osoitustestejä voidaan käyttää paitsi mikrobien osoitukseen suoraan näytteestä, myös viljelystä eristetyin kannan tunnistukseen. Tällöin tarvitaan kuitenkin yleensä ainakin alustava tunnistus, jotta nukleiinihappo-osoitustesti osataan valita oikein. Nopeat nukleiinihappomonistustestit tunnistavat yleensä vain tietyn patogeenin tai rajallisen joukon patogeeneja. Lisäksi niiden usein kallis hinta, rajallinen näytekapasiteetti ja se, että automatisoiduilla, nopeaan tunnistukseen pohjautuvilla ja nukleiinihappomonistukseen perustuvilla laitteilla pystytään tekemään vain rajallista, kyseiselle laitteelle suunniteltua ja validoitua testivalikoimaa, rajoittaa niiden käyttöä (1).

Näiden nukleiinihappo-osoitustestien lisäksi kliiniset mikrobiologit ovat olleet kiinnostuneita kehittämään muita nopeita mutta kustan-

nuksiltaan edullisempia tunnistusmenetelmiä. Aiempia massaspektrometrisiä menetelmiä hellävaraisemman MALDI-TOF-tekniikan (matrix-assisted laser-desorption-ionization time-of-flight) kehityksen myötä kiinnostus massaspektrometrian soveltamiseen mikrobien tunnistuksessa virisi 1990-luvun puolivälissä (3,4). Useita tutkimuksia julkaistiin 2000- ja 2010-lukujen vaihteessa ja niissä testattiin laajemmin MALDI-TOF-massaspektrometrian käyttöä mikrobien tunnistuksessa (5,6,7). Sen todettiin kykenevän useimpien bakteeripatogeenien luotettavaan tunnistukseen. Kuitenkin 2010-luvun alussa tietokantojen puutteellinen kattavuus rajoitti vielä tekniikan käyttöä erityisesti anaerobisten bakteerien tunnistuksessa. MALDI-TOF-massaspektrometria on 2010-luvulla pitkälti syrjäyttänyt tavanomaiset biokemialliset menetelmät mikrobien ensisijaisena tunnistusmenetelmänä kliinisen mikrobiologian laboratorioissa (8), koska se on mahdollistanut useimpien kliinisesti merkittävien bakteerien ja sienten nopean, luotettavan ja edullisen tunnistuksen viljelymaljoilta tai veriviljelypulloista samalla laitteella.

Mistä MALDI-TOF-massaspektrometriassa on kyse?

MALDI-TOF-massaspektrometrillä (KUVA 1) tehtävä mikrobien tunnistus perustuu niiden tyypillisesti kokoluokkaa 2–20 kDa olevien ribosomaalisten proteiinien ja peptidien muodostamien proteiinispektrien eli peptidisormenjälkien vertailuun. Menetelmässä bakteeri- tai sienibiomassaa siirretään viljelymaljalta näytelevylle, ja sen päälle pipetoidaan nestemäistä matriisia (tavallisimmin hydroksikanelihappoa). Tarvittaessa proteiinien saamista esille soluista voidaan tehostaa lyhyellä muurahais-happokäsittelyllä. Samalle näytelevylle mahtuu käytettävän laitteiston mukaan 16–96 näytettä. Matriisin kuivuttua näytelevy syötetään massaspektrometriin, jossa näytteen biomassan sisältämiä proteiineja ionisoidaan lasersäteen avulla. Ionisoituneet proteiinit lentävät tyhjiössä kohti detektoria, joka mittaa niiden lentoajan. Laite laskee mitattujen lentoaikojen perusteella proteiineille massa-varaussuhteen ja kunkin eri-



KUVA 2. Esimerkki bakteerin MALDI-TOF-massaspektrometriaspektristä.

kokoisen proteiinin intensiteetin, joka heijastaa kyseisen proteiinin määrää näytteessä. **KUVA-SA 2** on esitetty tyypillinen bakteerikannan spektri, jossa proteiinien massa-varaussuhde on kuvattu x-akselilla ja intensiteetti y-akselilla.

Miten mikrobien tunnistus MALDI-TOF-massaspektrometriallla tapahtuu?

Kullakin bakteeri- ja sienilajilla on juuri sille tyypillinen proteiinispektri. Vertailemalla mikrobikannan spektriä MALDI-TOF-massaspektrometrialaitteiston tietokantaan, johon on talletettu tuhansien mikrobilajien referenssikantojen spektrejä, bakteeri tai sieni voidaan yleensä tunnistaa luotettavasti lajitasolle (1,8). Ohjelmiston käyttämä algoritmi ilmoittaa tunnistustuloksen lisäksi myös numeroarvona tutkittavan kannan ja sen lähimmän tietokantavastineen spektrien samankaltaisuuden. Kahdesta markkinoilla olevasta mikrobien tunnistamiseen tarkoitettusta laitteisto- ja ohjelmistokokonaisuudesta VITEK MS (bioMérieux) ilmaisee tämän tunnistuksen luotettavuusarvon prosenttilukuna, MALDI Biotyper (Bruker Daltonics) taas arvona nolasta kolmeen.

MALDI-TOF-massaspektrometria klinisen mikrobiologian laboratoriossa

MALDI-TOF-massaspektrometria on 2010-luvun aikana pitkälti korvannut tavanomaiset klinisessä mikrobiologiassa käytetyt biokemialliset menetelmät, koska luotettava tunnistustulos on mahdollista saada minuuteissa useimmille klinisesti merkittävälle bakteereille biokemiallisten menetelmien usein vaatiman 1–2 vuorokauden sijaan (8,9). Suoraan näytteestä tehtäviin nukleiinihappo-osoitusmenetelmiin verrattuna MALDI-TOF-massaspektrometrian merkittävänä rajoituksena on se, että se käytännössä vaatii edeltävän malja- tai rikastusviljelyn.

Myös halvat reagenssi- ja materiaalikustannukset sekä tunnistustulosten luotettavuus ovat MALDI-TOF-massaspektrometrian merkittäviä etuja. Neville ym. arvioivat tutkimuksessaan vuonna 2011 MALDI-TOF-massaspektrometriallla tehdyn tunnistuksen kustannuksiksi noin 0,45 Australian dollaria (0,70 euroa) bakteerikantaa kohden (6). Vaikka itse laitteiston ja ohjelmiston yhteenlasketut hankintakustannukset ovat noin 150 000–250 000 euroa laitteistosta ja mahdollisista lisätietokannoista

riippuen, MALDI-TOF-massaspektrometria on erittäin edullista verrattuna nukleiinihappo-osoitukseen perustuviin automatisoituihin tunnistustesteihin, joiden kohdalla yhden kannan testaaminen voi helposti maksaa 10–100 euroa.

Hoitavalle lääkärille MALDI-TOF-massaspektrometrian käyttöönotto näyttäytyy viljelytutkimusten tunnistustulosten nopeutumisen lisäksi siten, että se on lisännyt lajinmäärityksen tarkkuutta monien kliinisesti merkittävien bakteeriryhmien osalta. Esimerkiksi pään ja lantion alueiden syvissä infektioissa esiintyvien, usein pitkän mikrobilääkehoidon vaativien *Actinomyces*-lajien löytäminen ja tunnistaminen ovat parantuneet olennaisesti MALDI-TOF-massaspektrometrian käyttöönoton myötä. Myös koagulaasinegatiivisten stafylokokkien osalta MALDI-TOF-massaspektrometria on auttanut erottamaan taudinaiheuttajia ihon normaalimikrobiston joukosta. Kliinisesti tärkeimmät esimerkit tässä ryhmässä ovat *Staphylococcus lugdunensis*- ja eläinperäiset *Staphylococcus pseudintermedius*-bakteerit, jotka ovat taudinaiheuttamiskyvyltään *Staphylococcus aureus*-bakteerin kaltaisia. Aiemmin nämä lajit on usein vastattu joko vain koagulaasinegatiivisena stafylokokkina tai tunnistettu virheellisesti *S. aureus*-bakteeriksi (10).

Baktereemisissa infektioissa tarvitaan edelleen rikastusviljelyä veriviljelypulloissa riittävän bakteeribiomassan saamiseksi diagnostiikka varten. MALDI-TOF-massaspektrometrian myötä lopulliseen veriviljelyvastaukseen kuluva aika on lyhentynyt merkittävästi. Useita menetelmiä on kehitetty bakteerien ja hiivasienten tunnistamiseksi MALDI-TOF-massaspektrometrialla suoraan positiivisesta veriviljelypullosta (11–15). Jo oikean lajinimen tunnistaminen auttaa kliinikkoa mikrobilääkevalinnassa, mikä taas parantaa potilaan eloonjäämisen ennustetta (16). Suoraan veriviljelypullosta tehty bakteerilajin tunnistus johtaa adekvaatin ja kapeakirjoisemman mikrobilääkehoidon aloittamiseen sepsispotilailla (17,18). Tämä taas johtaa lyhyempiin sairaalahoitojaksoihin ja sitä kautta pienempiin hoitokustannuksiin (19,20).

Useimmat laboratoriot vastaavat MALDI-TOF-massaspektrometrilla saamansa lajimmääritykset suoraan ainakin veriviljelylöydöksistä

ja muista erityisen kriittisistä näytelaaduista, kun huomioidaan menetelmästä johtuva epävarmuus tiettyjen bakteeriryhmien kohdalla. MALDI-TOF-tunnistustulosten vastaamisessa käytännöt voivat vaihdella laboratoriokohtaisesti siinä, vastataanko esimerkiksi *Bacteroides fragilis*-ryhmään kuuluvat lajit ryhmätasolla vai lajinimellä, tai vastataanko haavasta otetusta bakteeriviljelynäytteestä vain ehdottomasti merkittäviksi tulkitut patogeenit vai muitakin lajeja niiden mahdollista roolia kommentoiden. Useimmissa tapauksissa laboratorio ei vastauksessa ilmoita erikseen, onko tunnistustulos saatu MALDI-TOF-massaspektrometria käyttäen tai millä luotettavuustasolla tulos on saatu. Laboratoriosta riippuen nämä tiedot saatetaan ilmoittaa vastauksessa esimerkiksi silloin, jos näyte on varta vasten lähetetty toisesta laboratorion tunnistettavaksi MALDI-TOF-massaspektrometrialla.

MALDI-TOF-massaspektrometrian rajoituksia bakteerin tunnistuksessa

MALDI-TOF-massaspektrometria ei pysty erottamaan toisistaan hyvin lähisukuisia bakteerilajeja. Näistä bakteereista kliinisesti merkittävimpiin kuuluvat *Shigella*-lajit, joita MALDI-TOF-massaspektrometria ei kykene erottamaan *Escherichia coli*-bakteereista sekä *Bacillus anthracis*, jonka erottaminen muista *Bacillus cereus*-ryhmän bakteereista on vaikeaa (21). Bakteerilajeille ja -ryhmille, joita menetelmä ei erota luotettavasti toisistaan, vaikuttaa olevan tyypillistä, että ne eivät erotu luotettavasti toisistaan myöskään 16S rRNA-sekvensoinnilla, jota käytetään mikrobiologiassa yleisesti nopeana ja edullisena referenssitunnistusmenetelmänä.

Viridans-streptokokkien tunnistus lajitasolle ei myöskään onnistu luotettavasti, mutta tunnistus ryhmätasolle (esimerkiksi *Streptococcus anginosus*- tai *mitis*-ryhmiin) onnistuu luotettavasti. Pneumokokin ja *mitis*-ryhmän streptokokkien erottaminen luotettavasti toisistaan ei onnistunut MALDI Biotyperin (Bruker Daltonics) aiemmilla tietokantaversioilla (22). Tämä ongelma korjaantui, kun MALDI Biotyperin tietokantaan lisättiin useita uusia *Streptococcus*

pneumoniae-, *Streptococcus mitis*- ja *Streptococcus oralis* -vertailuspektrejä (23,24). VITEK MS (bioMérieux) kykeni sen sijaan erottamaan luotettavasti pneumokokin *mitis*-ryhmän streptokokeista jo aiemmassa tietokantaversiossaan (22).

MALDI-TOF-massaspektrometria mykobakteerien ja sienten tunnistuksessa

MALDI-TOF-massaspektrometriaa käytetään nykyään laajalti myös mykobakteerien, hiiva- ja rihmasienten (eli homeiden ja silsasienten) tunnistukseen (8). Mykobakteerien ja aerobisten aktinobakteerien kuten *Nocardia*-lajien solujen hajottaminen ionisointia varten on niiden soluseinän rakenteen vuoksi vaikeampaa kuin muilla bakteereilla (21). Tätä ongelmaa on mykobakteerien osalta pyritty ratkaisemaan uutomenetelmiä kehittämällä (25,26).

Mykobakteerien tunnistuksessa merkittävänä rajoituksena on myös se, että MALDI-TOF-massaspektrometria ei kykene erottamaan luotettavasti toisistaan *Mycobacterium tuberculosis* -kompleksin eri kantoja (9). Lisäksi *M. tuberculosis* -kompleksiin kuuluvien kantojen tuominen ulos mykobakteerilaboratoriosta MALDI-TOF-tunnistusta varten vaatii inaktiivoinnin turvallisuussyistä. Niinpä usein lie- neekin käytännössä järkevämpää tunnistaa *M. tuberculosis* -kompleksiin kuuluvat kannat jo mykobakteerilaboratoriossa esimerkiksi GeneXpert MTB/Rif -testiä (Cepheid) käyttäen ja käyttää MALDI-TOF-massaspektrometriaa vain ympäristömykobakteerien tunnistukseen.

Hiivasienten luotettava tunnistus on MALDI-TOF-massaspektrometrialla mahdollista käyttämällä samaa näytteenkäsittelyä kuin bakteereilla (27). Homeiden ja silsasienten tunnistus menetelmällä voi onnistua samalla näytteenkäsittelyllä kuin bakteereilla ja hiivoilla. Edeltävä liemikasvatus parantaa kuitenkin usein tunnistusta, koska siinä rihmasienikasvusto on homogeenisempaa kuin viljelymaljoilla (28).

Silsasienistä menetelmä kykenee erottamaan luotettavasti toisistaan *Trichophyton mentagrophytes/interdigitale* -ryhmän ja *Trichophyton*

rubrum/violaceum -kompleksin mutta ei kykene luotettavasti erottamaan näiden ryhmien sisällä lähisukuisia lajeja (29,30). *Aspergillus*-suvun homeista MALDI-TOF-massaspektrometria kykenee erottamaan toisistaan eri laji- kompleksit (esimerkiksi *Aspergillus fumigatus* -kompleksin *Aspergillus flavus* -kompleksista). Laajassa tutkimuksessa VITEK MS v3.0 -järjestelmällä kyettiin tunnistamaan 93 % kliinisistä *Aspergillus*-kannoista (30).

Mihin muuhun kuin lajintunnistukseen MALDI-TOF-massaspektrometriaa voi kliinisessä mikrobiologiassa käyttää?

MALDI-TOF-massaspektrometrian myötä on myös pystytty saamaan uutta epidemiologista tietoa varsinkin sellaisista bakteerilajeista, joiden luotettava lajitasolleen tunnistaminen on aikaisemmin ollut mahdollista vain PCR-menetelmiä käyttäen. Esimerkkinä tästä on *Actinotignum schaalii* -bakteerin tunnistaminen varteenotettavaksi patogeneiksi erityisesti virtsatieperäisissä infektioissa (31). Ruokavä- litteisten infektioiden aiheuttajien tyyppityk- sessä menetelmää on sovellettu muun muassa *Listeria monocytogenes*- ja *Salmonella enterica* -bakteerien tyyppitykseen (9). Suomessa epi- demiologisissa tarkoituksissa tehtävä tyyppitys perustuu kuitenkin pääasiassa PCR- ja serologi- siin menetelmiin.

Tällaiset MALDI-TOF-pohjaiset tyyppitys- menetelmät perustuvat tyyppillisesti tiettyjen proteiinipiikkien tunnistamiseen. Tällöin piik- kien tarkka toistettavuus laboratorioden välillä muodostuu keskeiseksi kriteeriksi arvioitaessa menetelmän käyttökelpoisuutta epidemiologi- ssa tyyppityksessä. Kehittyneiden bioinforma- tiikan työkalujen soveltaminen on mahdollista- nut MALDI-TOF-massaspektrometrian käytön luotettavana epidemiologisen tyyppityksen me- netelmänä (32).

Vaikka MALDI-TOF-massaspektrometrialla ei voitane ainakaan täysin korvata tavanomaisia mikrobilääkeherkkyyssmäärityksiä, sen käyttöä on tutkittu joidenkin resistenssimekanismien seulonnassa. MRSA-osoituksen voisi teorias- sa käyttää *mecA*-geenikompleksin koodaamien

peptidien aiheuttamien piikkien havaitsemista MALDI-TOF-spektristä. Tällaisen menetelmän herkkyys näyttää kuitenkin olevan varsin vaatimatonta 37 %:n luokkaa, vaikka tarkkuus onkin jopa yli 98 % (33).

MALDI-TOF-massaspektrometrian soveltumista gramnegatiivisten sauvojen ESBL- tai karbapenemaasiensyymien tuoton nopeaan osoittamiseen on myös tutkittu (34,35). Koska näiden resistenssimekanismien taustalla on suuri joukko erilaisia entsyymejä, lähestymistavaksi on keksitty kefalosporiini- tai karbapeneemimolekyylin hajoamisen osoittaminen. Tätä varten MALDI-TOF-laitteiston mittausaluetta on tosin muutettava tavanomaisesta 2–20 kDa:n alueesta näiden lääkeaineiden molekyyliainemassojen mukaiseksi tyyppillisesti noin 100–1000 Da:n alueelle. Nämä menetelmät eivät liene yleisesti rutiinikäytössä.

Lopuksi

MALDI-TOF-massaspektrometrian ja nopeiden, automatisoitujen nukleiinihappo-osoitustestien laajamittainen käyttöönotto on 2010-luvulla nopeuttanut merkittävästi mikrobien tunnistusta kliinisen mikrobiologian laboratorioissa. Menetelmä on mahdollistanut monien aiemmin hankalasti tunnistettavien mikrobiryhmien luotettavan tunnistuksen sairaalalaboratorioissa, joissa ei välttämättä ole käytettävissä sekvensointi- ja muita vaativampia molekyylibiologisia menetelmiä. Tämä on osaltaan vaikuttanut myös lisääntyneeseen kiinnostukseen aiempaa nopeampien mikrobilääkeherkkyysmääritysmenetelmien kehittämiseen. Viime vuosikymmenellä tähän tarkoitukseen on kehitetty useita mikrobilääkeresistenssigeenien osoitukseen, massaspektrometriaan ja ku-

Ydinasiat

- ▶ MALDI-TOF-massaspektrometria on korvannut 2010-luvulla pitkälti biokemialliset tunnistusmenetelmät kliinisessä mikrobiologiassa.
- ▶ MALDI-TOF-massaspektrometria on nopeuttanut tunnistustulosten vastaanamista bakteeriviljelytutkimuksista keskimäärin yli vuorokaudella.
- ▶ MALDI-TOF-massaspektrometrian etuja sieni- ja bakteeritaudinaiheuttajien tunnistuksessa ovat nopeus, edulliset reagenssi- ja materiaalikustannukset, käytön yksinkertaisuus ja tunnistuksen luotettavuus.
- ▶ MALDI-TOF-massaspektrometrialla voidaan tunnistaa mitä tahansa bakteereita tai sieniä, kunhan ne löytyvät laitteiston tietokannasta.
- ▶ MALDI-TOF-massaspektrometrian rajoituksia ovat edeltävä viljely, herkkyysmääritysovellusten rajallisuus sekä se, että joidenkin lähisukuisten bakteerien ja sienten tunnistus lajitasolle ei ole mahdollista.

vantamiseen perustuvia sovelluksia. Tällaisten sovellusten käyttö tulee tulevaisuudessa yleistymään edelleen, mikä puolestaan aiheuttaa tarpeen tarkastella myös laboratorioiden aukioloaikoja ja hoitoyksiköiden käytäntöjä sitä silmällä pitäen, miten teknologian kehityksen mahdollistama nopeampi tulosten valmistuminen pystytään täysimittaisesti hyödyntämään potilashoidossa (1,2,36). ■

INKA HARJU, MMT, sairaalamikrobiologi
JUHA O. GRÖNROOS, LT, kliinisen mikrobiologian erikoislääkäri

Tyks Laboratoriot, kliinisen mikrobiologian vastualue

VASTUUTOIMITTAJA
Seppo Meri

SIDONNAISUUDET

Inka Harju: Luottamustoimet (Suomen lääketieteellisen mykologian seuran hallituksen jäsen 2018–), muut sidonnaisuudet (tutkimusyhteistyö: Abacus Diagnostica, Bruker Daltonics, Thermo Fisher Scientific), matka-apuraha (Helsingin yliopisto, Suomen sairaalamikrobiologit ry, American Society for Microbiology), tutkimusrahoitus (EVO-rahoitus)

Juha Grönroos: Luento-/asian tuntijapalkkio (Becton Dickinson, MSD, Labquality), hankkeet (Valtakunnallisten Lääkäripäivien ohjelmaryhmän jäsen)

KIRJALLISUUTTA

1. Miller MB, Atrzadeh F, Burnham CA, ym. Clinical utility of advanced microbiology testing tools. *J Clin Microbiol*, julkaistu verkossa 26.8.2019. DOI:10.1128/JCM.00495-19.
2. Ramanan P, Bryson AL, Binnicker MJ ym. Syndromic panel-based testing in clinical microbiology. *Clin Microbiol Rev*, julkaistu verkossa 15.11.2017. DOI:10.1128/CMR.00024-17.
3. Claydon MA, Davey SN, Edwards-Jones V, ym. The rapid identification of intact microorganisms using mass spectrometry. *Nat Biotechnol* 1996;14:1584–6.
4. Krishnamurthy T, Ross PL. Rapid identification of bacteria by direct matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometric analysis of whole cells. *Rapid Commun Mass Spectrom* 1996;10:1992–6.
5. Bizzini A, Durussel C, Bille J, ym. Performance of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identification of bacterial strains routinely isolated in a clinical microbiology laboratory. *J Clin Microbiol* 2010;48:1549–54.
6. Neville SA, Lecordier A, Ziochos H, ym. Utility of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry following introduction for routine laboratory bacterial identification. *J Clin Microbiol* 2011;49:2980–4.
7. Seng P, Drancourt M, Gouriet F, ym. Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin Infect Dis* 2009;49:543–51.
8. Martin IW. Mass spectrometry in the clinical microbiology laboratory. Kirjassa: Nair H, Clarke W, toim. Mass spectrometry for the clinical laboratory. London: Academic Press 2017, s. 231–42.
9. Rodríguez-Sánchez B, Cercenado E, Coste AT, ym. Review of the impact of MALDI-TOF MS in public health and hospital hygiene, 2018. *Euro Surveill* 2019. DOI:10.2807/1560-7917.ES.2019.24.4.1800193.
10. Argemi X, Riegel P, Lavigne T, ym. Implementation of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry in routine clinical laboratories improves identification of coagulase-negative Staphylococci and reveals the pathogenic role of *Staphylococcus lugdunensis*. *J Clin Microbiol* 2015; 53:2030–6.
11. Dortet L, Poirel L, Nordmann P. Rapid detection of ESBL-producing Enterobacteriaceae in blood cultures. *Emerg Infect Dis* 2015;21:504–7.
12. Ferreira L, Sánchez Juanes F, Porras Guerra I, ym. Microorganisms direct identification from blood culture by matrix assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry. *Clin Microbiol Infect* 2011;17:546–51.
13. Ferroni A, Suarez S, Beretti JL, ym. Real-time identification of bacteria and *Candida* species in positive blood culture broths by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol* 2010;48:1542–8.
14. Hazelton B, Thomas LC, Olma T, ym. Rapid and accurate direct antibiotic susceptibility testing of blood culture broths using MALDI Sepsityper combined with the BD Phoenix automated system. *J Med Microbiol* 2014;63:1590–4.
15. Kok J, Thomas LC, Olma T, ym. Identification of bacteria in blood culture broths using matrix-assisted laser desorption-ionization Sepsityper and time of flight mass spectrometry. *PLoS One* 2011. DOI:10.1371/journal.pone.0023285.
16. Kumar A, Roberts D, Wood KE, ym. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med* 2006;34:1589–96.
17. Clerc O, Prod'hom G, Vogne C, ym. Impact of matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry on the clinical management of patients with Gram-negative bacteremia: a prospective observational study. *Clin Infect Dis* 2013;56:1101–7.
18. Martiny D, Debaugnies F, Gateff D, ym. Impact of rapid microbial identification directly from positive blood cultures using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry on patient management. *Clin Microbiol Infect* 2013. DOI:10.1111/1469-0691.12282.
19. Dixon P, Davies P, Hollingworth W, ym. A systematic review of matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry compared to routine microbiological methods for the time taken to identify microbial organisms from positive blood cultures. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2015;34:863–76.
20. Pliakos EE, Andreatos N, Shehadeh F, ym. The cost-effectiveness of rapid diagnostic testing for the diagnosis of bloodstream infections with or without antimicrobial stewardship. *Clin Microbiol Rev*, julkaistu verkossa 30.5.2018. DOI:10.1128/CMR.00095-17.
21. Rahi P, Prakash Om, Shouche YS. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass-spectrometry (MALDI-TOF MS) based microbial identifications: challenges and scopes for microbial ecologists. *Front Microbiol* 2016;7:1359.
22. Kärpänoja P, Harju I, Rantakokko-Jalava K, ym. Evaluation of two matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry systems for identification of viridans group streptococci. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014;33:779–88.
23. Harju I, Lange C, Kostrzewa M, ym. Improved differentiation of *Streptococcus pneumoniae* and other mitis group streptococci by MALDI Biotyper using an improved MALDI Biotyper database content and a novel result interpretation algorithm. *J Clin Microbiol* 2013;55:914–22.
24. Marín M, Cercenado E, Sánchez-Carrillo C, ym. Accurate differentiation of *Streptococcus pneumoniae* from other species within the *Streptococcus mitis* group by peak analysis using MALDI-TOF MS. *Front Microbiol* 2017;8:698.
25. Alcaide F, Amlerová J, Bou G, ym. European study group on genomics and molecular diagnosis (ESGMD). How to: identify non-tuberculous Mycobacterium species using MALDI-TOF mass spectrometry. *Clin Microbiol Infect* 2018; 24:599–603.
26. Rodríguez-Sánchez B, Ruiz-Serrano MJ, Ruiz A, ym. Evaluation of MALDI Biotyper mycobacteria library v3.0 for identification of nontuberculous Mycobacteria. *J Clin Microbiol* 2016;54:1144–7.
27. Chao QT, Lee TF, Teng SH, ym. Comparison of the accuracy of two conventional phenotypic methods and two MALDI-TOF MS systems with that of DNA sequencing analysis for correctly identifying clinically encountered yeasts. *PLoS One*, julkaistu verkossa 16.10.2014. DOI:10.1371/journal.pone.0109376.
28. Cassagne C, Normand AC, L'Ollivier C, ym. Performance of MALDI-TOF MS platforms for fungal identification. *Mycoses* 2016; 59:678–90.
29. L'Ollivier C, Ranque S. MALDI-TOF-based dermatophyte identification. *Mycopathologia* 2017;182:183–92.
30. Rychert J, Slechta ES, Barker AP, ym. Multicenter evaluation of the Vitek MS v3.0 system for the identification of filamentous fungi. *J Clin Microbiol*, julkaistu verkossa 24.1.2018. DOI:10.1128/JCM.01353-17.
31. Lotte R, Lotte L, Ruimy R. *Actinotignum schaalii* (formerly *Actinobaculum schaalii*): a newly recognized pathogen-review of the literature. *Clin Microbiol Infect* 2016;22:28–36.
32. Oberle M, Wohlwend N, Jonas D, ym. The technical and biological reproducibility of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) based typing: employment of bioinformatics in a multicenter study. *PLoS One*, julkaistu verkossa 31.10.2016. DOI:10.1371/journal.pone.016426.
33. Rhoads DD, Wang H, Karichu J, ym. The presence of a single MALDI-TOF mass spectral peak predicts methicillin resistance in staphylococci. *Diagn Microbiol Inf Dis* 2016;86:257–61.
34. Oviaño M, Fernández B, Fernández A, ym. Rapid detection of enterobacteriaceae producing extended spectrum beta-lactamases directly from positive blood cultures by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *Clin Microbiol Infect* 2014;20:1146–57.
35. Vogne C, Prod'hom G, Jaton K, ym. A simple, robust and rapid approach to detect carbapenemases in Gram-negative isolates by MALDI-TOF mass spectrometry: validation with triple quadrupole tandem mass spectrometry, microarray and PCR. *Clin Microbiol Infect* 2014;20:01106–12.
36. Messacar K, Parker SK, Todd JK, ym. Implementation of rapid molecular infectious disease diagnostics: the role of diagnostic and antimicrobial stewardship. *J Clin Microbiol* 2017; 55:175–23.

SUMMARY

The use of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical microbiology

Within the last decade, MALDI-TOF (matrix-assisted laser-desorption-ionization time-of-flight) mass spectrometry has enabled a faster and more reliable identification of most pathogenic bacteria and fungi than biochemical methods. Whereas the identification of bacteria by biochemical methods could take several days, identification with MALDI-TOF mass spectrometry can be achieved within minutes from a colony growing on a culture plate or within twenty minutes from a positive blood culture bottle. This enables the clinical microbiology laboratory to report the identification result to the clinician directly at the time when microbial growth is first observed on the culture plates or in the blood culture bottles. The most significant limitation of MALDI-TOF mass spectrometry is that it requires a preceding plate culture or an enrichment step. In addition, exceptionally closely related bacterial groups, such as *Escherichia coli* and *Shigella*, which cannot be differentiated with the 16S rRNA sequencing widely used as a reference method in the identification of bacteria, pose a challenge even to the MALDI-TOF technology.