

# Performances De La Spectrometrie De Masse Maldi Tof Dans L'identification Parasitaire Et Fongique

M.Kadiri<sup>1,2</sup>, Z.Tlamçani<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>service De Parasitology-Mycologie Du Laboratoire Central Du Centre Hospitalier Universitaire Hassan Ii  
De Fès, Maroc

<sup>2</sup>université Sidi Mohammed Benabdallah, Fès, Maroc

---

## Résumé:

Jusqu'à il y a peu, il était difficile pour la plupart des microbiologistes de comprendre que la spectrométrie de masse : matrix-assisted laser desorption ionization (MALDI)- time of flight (TOF) pourrait convenir à l'identification de micro-organismes entiers et remplacer les méthodes conventionnelles utilisées dans les laboratoires de microbiologie clinique de routine. Mais le développement de bases de données sur les micro-organismes a ouvert la voie à la progression de la spectrométrie de masse MALDI-TOF comme outil de diagnostic. Cette technique a été utilisée pour la première fois pour identifier les bactéries puis elle a été largement introduite en tant que méthode de diagnostic dans les laboratoires de microbiologie. Au cours de la dernière décennie, le MALDI TOF a commencé à prendre place aux unités de parasitologie et de mycologie suite à plusieurs études ayant démontré que cette technique permettrait d'identifier un nombre non négligeable de genres et d'espèces de champignons mais aussi de parasites avec obtention de taux d'identification très élevés, mais les bases de données utilisées restent encore très limitées et loin d'être une référence. Notre travail vient mettre le point sur l'intérêt du MALDI-TOF MS dans le diagnostic mycologique et parasitaire.

**Key Word:** MALDI TOF, identification, champignons, parasites.

---

Date of Submission: 13-05-2024

Date of Acceptance: 23-05-2024

---

## I. Introduction

Dans le cadre du diagnostic clinique et biologique, la spectrométrie de masse (MS) est utilisée depuis 1912 comme une approche pour l'analyse basée sur l'identification des protéines des échantillons dans les laboratoires de biochimie et d'hématologie [1].

En 1975, Anhalt & Fenselau ont proposé, pour une première fois, la modification de la méthode de désorption laser assistée par matrice/ionisation (MALDI = *matrix-assisted laser desorption ionization*) à temps de vol (TOF = time of flight) pour l'utiliser comme technique de caractérisation des bactéries [2]. En effet, il a été démontré que différentes espèces bactériennes présentent des spectres de masse de protéines spécifiques, qui peuvent être utilisés pour l'identification de ces dernières.

Au cours de la dernière décennie, le MALDI-TOF MS a été largement introduit en tant que méthode de diagnostic dans les laboratoires de microbiologie, où il a remplacé la majorité des autres techniques notamment les tests phénotypiques, l'identification biochimique et les kits d'agglutination en tant que méthode d'identification des agents pathogènes de première ligne, en raison de sa grande précision diagnostique, de sa robustesse, fiabilité et rapidité d'exécution. MALDI-TOF MS est maintenant utilisé de façon routinière pour l'identification des bactéries, des mycobactéries et de certains champignons [3, 4, 5]. Plus récemment, ce dernier a été appliquée à la recherche pour la détection et l'identification de virus, des protozoaires et des arthropodes [6, 7, 8].

Plusieurs études ont utilisé cette technique sur des parasites protozoaires tels que *Leishmania spp* [9, 10], *Giardia spp* [11], *Cryptosporidium spp.* [12], *Trypanosoma spp* [13], *Plasmodium spp* [14] et *Dientamoeba spp* [15]. En outre, elle a été également utilisée pour identifier certains ectoparasites et vecteurs, tels que les tiques [16], les puces [17] et les moustiques [18].

Les données sur l'utilisation du MALDI-TOF MS pour le diagnostic des helminthes sont rares, mais des preuves récentes suggèrent un rôle potentiel pour une identification fiable des nématodes.

L'objectif principal de cette revue est de résumer les données disponibles, aussi limitées soient-elles, concernant les applications du MALDI-TOF MS pour l'identification des parasitoses et champignons humaines pathogènes ainsi que de mettre en évidence l'utilité et les contraintes de cette nouvelle technologie dans le but d'élargir nos connaissances en matière des indications du MALDI-TOF MS en parasitologie-mycologie.

## II. Le Principe De L'identification Des Espèces Basée Sur Le Maldi Tof Ms

L'identification des espèces basée sur le MALDI MS est initiée par : Le dépôt de l'échantillon sur une plaque métallique spécialement conçue appelée plaque cible, puis, la mesure de la spectrométrie de masse MALDI TOF qui a lieu en deux phases, et enfin la déduction de l'espèce par la mise en correspondance des spectres avec la base de données des spectres dérivés d'espèces connues [19].

### La phase ionisation/désorption (MALDI)

L'identification est réalisée sur une petite portion de substances biologiques, notamment de colonies isolées à partir des milieux de culture ou une goutte de protéine intacte extraite à l'aide de procédures simples, puis l'échantillon est directement ajouté dans un spot sur une plaque cible en métal ou en plastique et laissée sécher à l'air libre.

Ensuite, la tâche d'échantillon est recouverte d'une goutte d'une concentration excessive de petits composés organiques photosensibles, que l'on appelle une matrice. Il existe plusieurs types de matrice tels que l'acide  $\alpha$ -cyano-4-hydroxycinnamique (HCCA/CHCA), l'acide sinapinique : acide 3, 5- diméthoxy-4-hydroxycinnamique (SA) et l'acide 2,5-dihydroxybenzoïque (DHB). L'acide  $\alpha$ -cyano-4-hydroxycinnamique est la matrice la plus fréquemment utilisée, cependant, il n'existe pas de matrice universellement recommandée.

Dans l'instrument MALDI, une petite région de la tâche cristalline échantillon-matrice généralement entre 0,05 et 0,2 mm de diamètre est irradiée à l'aide d'un faisceau pulsé d'un laser, qui est souvent un faisceau d'azote avec une longueur d'onde de 337.

La matrice absorbe l'énergie laser et s'échauffe rapidement, ce qui entraîne la désorption ou vaporisation ce qui conduit à la décomposition structurelle des protéines et la protonation pour former un panaché dense et chaud de gaz et d'ions ablatés [20].

### Temps de vol (TOF)

La technologie TOF (*time of flight*) vient compléter la technique MALDI.

Dans une zone d'accélération, à l'aide d'un 'field' électrique, une impulsion électrique de 10 à 30 kiloélectronvolts est appliquée et créant une différence de potentiel puis les ions sont accélérés dans un tube à vide qui se termine par un détecteur d'ions.

Les ions sont généralement de charge unique et la tension d'accélération entraîne la même énergie cinétique appliquée à chaque ion chargé unique, ce qui entraîne la séparation des ions en fonction du rapport masse/charge ( $m/z$ ) dans la dérive ou le tube à vide. Le temps de vol "TOF" des ions est enregistré sous forme de spectres exprimés en temps de vol qui sont ensuite usuellement traduit en spectre de masse ( $m/z$ ). Les ions chargés individuellement, représentant la masse de l'ion initial non fragmenté. Les espèces d'échantillons inconnus seront déduites après le traitement des données et la correspondance directe du modèle avec celui des spectres établis à partir d'espèces bien définis compilées sous forme de base de données. Les espèces déduites par la mise en correspondance des profils de protéines se situent généralement dans une plage de 2 à 20 kDa (2 000 à 20 000  $m/z$ ) [9,21].

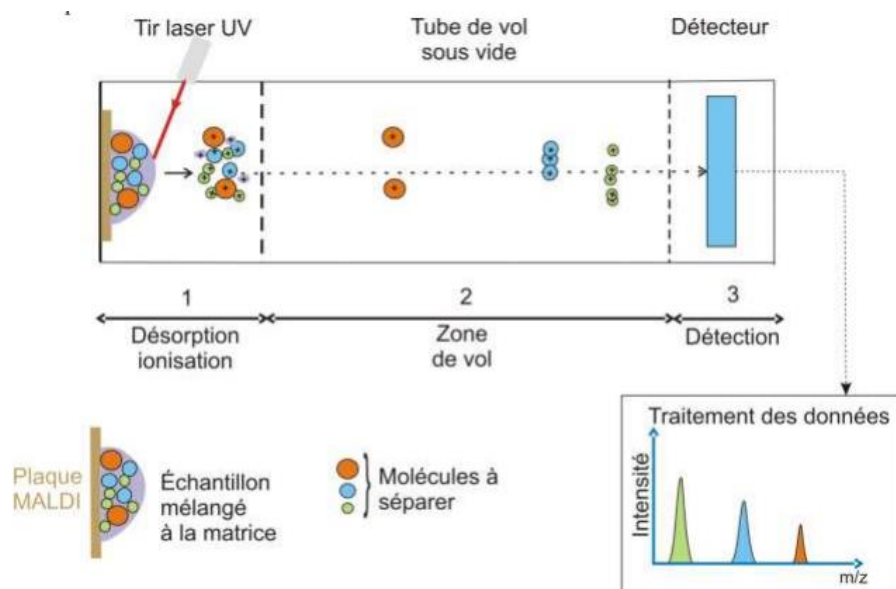
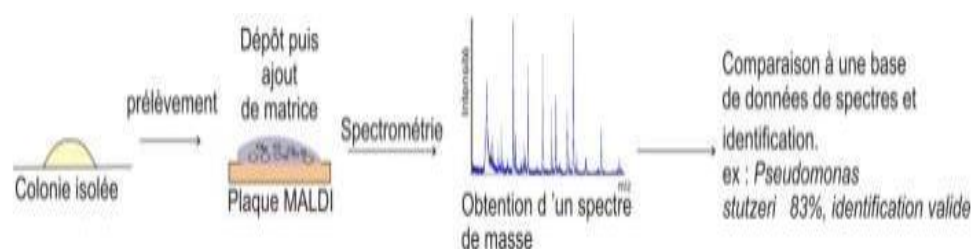


Figure 1: Schéma explicatif du principe de fonctionnement du MLADI TOF MF [22]



**Figure 2:** Schéma résumant les étapes d'identification des micro-organismes par spectrométrie de masse MALDI TOF [22]

### III. Applications Du Maldi-Tof En Parasitologie

Les parasitoses appartiennent à trois catégories principales : les protozoaires, les helminthes et les ectoparasites. Beaucoup d'entre eux, mais pas tous, vivent dans le tube digestif de l'homme et des animaux. Les ectoparasites, par exemple les tiques, les acariens et les puces, sont des organismes multicellulaires qui vivent à la surface du corps de leur hôte [23].

#### *Leishmaniose*

La leishmaniose est une maladie parasitaire transmise par un vecteur, dont le spectre clinique peut aller de la leishmaniose cutanée légère à la leishmaniose viscérale potentiellement mortelle [24]. Actuellement, aucun vaccin n'est disponible pour la leishmaniose, d'où l'identification précoce de l'espèce de *Leishmania* infectante, et l'initiation d'une chimiothérapie appropriée est le seul moyen de contrôler cette maladie. Les méthodes conventionnelles de diagnostic de l'infection sont basées sur l'examen direct du frottis et la culture, ce qui nécessite une expertise. La mise en culture demande beaucoup de travail, et les résultats ne sont disponibles qu'après plusieurs semaines. La méthode de référence pour l'identification des espèces de *Leishmania*, qui a été recommandée par l'OMS, est l'électrophorèse enzymatique multilocus (MLEE). Mais cette méthode est très laborieuse, coûteuse et nécessite la culture d'une quantité importante de parasites, ce qui peut prendre plusieurs semaines [25]. Les méthodes moléculaires basées sur la PCR en temps réel, l'amplification par la PCR suivie d'une analyse par polymorphisme de longueur des fragments de restriction ou le typage par séquence multilocus ou le séquençage de multiple gènes permettent l'investigation d'échantillons cliniques, de cultures de petite taille et donnent des résultats en un ou deux jours ouvrables [26].

Récemment, quelques études ont rapporté l'utilisation du MALDI-TOF MS pour l'identification de diverses espèces de *Leishmania* à partir de cultures in vitro [9, 27]. Mouri et al ont décrit une méthode de préparation des échantillons pour une identification précise de diverses espèces de *Leishmania* par MALDI-TOF MS. L'analyse du spectre de masse des fragments protéiques de chaque échantillon a révélé que les isolats pouvaient être identifiés jusqu'au niveau du sous-genre de *Leishmania* anciennement appelé *Viannia*, et jusqu'au niveau de l'espèce en fonction de la présence ou de l'absence de l'agent pathogène. Sur la base de la présence/absence de pics mutuellement exclusifs dans les spectres de masse des fragments protéiques des échantillons, les chercheurs ont confirmé que l'identification de *Leishmania spp* par MALDI-TOF MS était comparable aux méthodes de référence précédemment citées soit la MLEE et la PCR en termes de spécificité et de sensibilité [28]. Un autre groupe de recherche a décrit une méthode simple de préparation de l'échantillon pour l'identification des espèces humaines de *Leishmania* par MALDI-TOFMS et ont réussi à identifier 66 des 69 souches de *Leishmania* isolées à partir d'échantillons cliniques [9]. Dans une autre étude, les chercheurs [27] ont employé la même méthode de préparation des échantillons pour le MALDI-TOF MS, que celle utilisée par Mouri et al (2014) et ont identifié avec précision les *Leishmania spp* qui ont été isolées de patients turcs après une culture in vitro [28]. Bien que, tous les chercheurs aient rapporté que le MALDI-TOF MS était aussi performant dans l'identification de *Leishmania spp* et moins coûteux que les méthodes notamment la PCR, la plupart d'entre eux ont signalé que la nécessité de cultiver les parasites avant l'identification était un obstacle majeur à l'intégration de cette technique dans la diagnostique clinique.

#### Les parasites entériques

##### *Cryptosporidium*

La première étude qui a rapporté l'utilisation du MALDI-TOF MS pour l'identification de *Cryptosporidium parvum* a été réalisée en 2000. Magnuson et al ont étudié deux types d'oocystes de *C. parvum* pour les analyser par MALDI-TOF MS, les oocystes entiers et les oocystes congelés-décongelés. Les oocystes ont été obtenus à partir d'échantillons fécaux de souris infectées expérimentalement. Les chercheurs ont observé que les spectres de masse des fragments protéiques des oocystes de *Cryptosporidium parvum*, qui ont été lavés et congelés-décongelés, étaient hautement reproductibles et présentaient une sensibilité accrue. Cependant

ils ont suggéré que le MALDI-TOF MS était une méthode complémentaire simple et rapide pour les contrôles de qualité de la production d'oocystes de *C. parvum* [29].

Plus tard, Glassmeyer et al ont décrit une méthode améliorée de préparation des échantillons pour l'acquisition des spectres de masse des oocystes de *C. parvum* par MALDI-TOF MS. Des oocystes intacts obtenus à partir d'échantillons fécaux de souris infectées expérimentalement lavés trois fois dans de l'eau et finalement mis en suspension, il était donc plus facile d'obtenir des spectres avec un plus grand nombre de pics clairs [30].

Les résultats obtenus ont montré que le MALDI-TOF MS est très sensible pour la détection de faibles nombres d'oocystes dans les échantillons environnementaux. Les produits de réaction en chaîne par polymérase (PCR) permettent de déterminer le(s) génotype(s) et restent plus rapides et simples pour l'identification du parasite [31].

### **Giardia**

Un groupe de recherche a décrit une approche basée sur le MALDI-TOF MS pour l'identification de *Giardia intestinalis* et *Giardia muris* à partir de kystes intacts. Les kystes intacts ont été lavés trois fois dans de l'eau distillée et mis en suspension dans de l'eau distillée. Les spectres de masse de *G. intestinalis* et *G. muris* ont été acquis pour chaque isolat et il a été observé que ces derniers étaient suffisamment distincts pour permettre leur identification par MALDI-TOF-MS [11]. Certes, le MALDI-TOF MS est une méthode relativement simple et rapide et a permis l'identification des deux espèces parasitaires de *Giardia sp* testée mais les méthodes basées sur la recherche des acides nucléiques restent plus sensibles en matière d'identification des espèces [31].

### **Blastocystis**

Le potentiel du MALDI-TOF MS a également été signalé pour l'identification de du genre *Blastocystis* à partir d'échantillons cliniques. Martiny et al ont décrit l'utilisation du MALDI-TOF MS pour l'identification et la différenciation de divers sous-types de *Blastocystis*, qui sont fréquemment présents dans les échantillons cliniques. Deux méthodes de préparation des échantillons ont été évaluées : l'extraction à l'éthanol/acide formique et le dépôt direct. Les chercheurs ont signalé que les spectres de masse des isolats de *Blastocystis*, obtenus après extraction à l'éthanol/acide formique, étaient meilleurs que ceux de la méthode de dépôt direct. Leurs résultats ont indiqué que le MALDI-TOF MS pourrait servir d'outil précieux pour l'identification et la détermination de divers sous-types de *Blastocystis* comparé aux méthodes moléculaires [31,32].

### **Entamoeba histolytica**

*Entamoeba histolytica* provoque l'amibiase, qui se classe au deuxième rang après le paludisme comme une maladie parasitaire protozoaire commune. Conventionnellement, le parasite est détecté par microscopie et culture, qui permettent de détecter *Entamoeba histolytica histolytica* et *Entamoeba dispar*. Les méthodes moléculaires basées sur la PCR et la PCR en temps réel peuvent différencier les deux espèces d'*Entamoeba*. Récemment, Calderaro et al ont décrit l'applicabilité de la spectrométrie de masse MALDI-TOF pour l'identification et la différenciation d'*E. histolytica* et d'*E. dispar* cultivées à partir d'échantillons cliniques. Les protéines ont été extraites de cultures contenant  $10^6$  trophozoïtes mL<sup>-1</sup> à l'aide d'une procédure d'extraction à l'éthanol/acide formique et déposées sur la plaque MALDI. L'analyse spectrale de masse des isolats d'*E. histolytica* et d'*E. dispar* a montré la présence d'au moins cinq pics capables de distinguer clairement *E. histolytica* et *E. dispar*. Les chercheurs ont signalé que le principal avantage du MALDI-TOF MS par rapport aux méthodes moléculaires telles que la PCR en temps réel est qu'il est moins laborieux et peu coûteux pour le diagnostic d'*E. histolytica*. [31,33].

### **Les ectoparasites**

#### **Les puces**

Les puces sont de petits insectes, qui servent de vecteurs pour plusieurs agents pathogènes chez les animaux et les humains comme, *Yersinia pestis*, *Rickettsia typhi*, *Rickettsia prowazekii*, *Rickettsia felis* [34].

Yssouf et al ont décrit l'utilisation du MALDI-TOF MS pour l'identification rapide de diverses espèces de puces en utilisant des spécimens de pattes, de têtes seulement ou de corps sans abdomen. La comparaison des échantillons testés avec la bibliothèque de la base de données spectrales a confirmé une détection rapide et fiable des espèces de puces [35].

#### **Les tiques**

Des études récentes ont montré que le MALDI-TOF MS est désormais une méthode alternative pertinente, rapide et peu coûteuse pour l'identification de certains groupes d'arthropodes, y compris plusieurs

espèces de tiques [36]. Il a été démontré que les spectres MS provenant d'extraits de protéines de pattes permettaient d'identifier les tiques.

La comparaison des échantillons testés avec la base de données spectrales a révélé que tous les organismes obtenus dans la nature ou prélevés sur des patients ont été identifiés avec précision à l'aide du MALDI-TOF MS.

Ils ont proposé une procédure permettant d'utiliser le MALDI-TOF MS pour identifier les espèces de tiques et déterminer la présence de rickettsies chez ces dernières. Il est intéressant de noter que les profils des spectres de masse des extraits protéiques préparés à partir des pattes de tiques ont montré qu'il était possible d'identifier les tiques infectées et non infectées. Dans une autre étude, le même groupe de recherche a rapporté que le mélange de protéines de l'hémolymphe récupéré à partir de la partie distale des pattes de tiques amputées, était également utile pour l'identification des espèces de tiques et des agents pathogènes associés [37].

#### IV. Place Du Maldi-Tof Ms Dans L'identification Des Mycoses

L'utilisation du MALDI-TOF MS pour l'identification des champignons a débuté au 21<sup>e</sup> siècle [9]. Des études ont été appliquées initialement sur des souches limitées de champignons : *Aspergillus spp*, *Penicillium spp.*, *Scybalidium dimidiatum* et *Trychophyton rubrum*. Plus ultérieurement pour *Candida albicans*, *Epidermophyton floccosum* et *Saccharomyces cerevisiae* [38, 39, 40]. La toute première étude portait sur des souches de dermatophytes comparée à des méthodes d'identification moléculaire, les résultats obtenus étaient concordants [25]. Actuellement, la technique MALDI-TOF MS permet l'identification des levures : les ascomycètes (*Candida spp*) et basidiomycètes (*Cryptococcus spp*), et de certaines moisissures (*Aspergillus spp*, *Fusarium spp*, *Scedosporium spp*, *Mucorales*) [41]. Le MALDI-TOF MS permet également le génotypage du *Cryptococcus spp* permettant la distinction des différentes variétés de *Cryptococcus* : *neoformans var. grubii* et *var. neoformans* et *Cryptococcus gattii* [42, 43].

##### Les levures

Lors d'une étude, Bader et al. , ont comparé les résultats obtenus par Bruker\* et BioMérieux\* (les systèmes commerciaux de MALDI-TOF MS les plus aboutis) à l'identification classique par les galeries: API ID32 C. Sur un échantillon de 1030 espèces communes de *Candida* cultivées sur milieux de Sabouraud, les pourcentages d'identification étaient respectivement à 99,5% et 99% [44]. Une autre étude réalisée sur 372 isolats a montré également de bons résultats pour les deux systèmes (respectivement 87,2% et 82,7%) [45].

A travers leur étude, McTaggart LR et al., ont procédé à l'évaluation des performances du MALDI-TOF en matière d'identification de *Cryptococcus spp* au niveau de l'espèce en comparant les résultats obtenus par le système Bruker à ceux par méthodes d'identification moléculaire. Sur 137 isolats de *C.neoformans* vs *C.gatti*, 136 ont été identifiés qui est un pourcentage de 99,2. Ce même groupe et dans les mêmes conditions, 86 isolats de *C.neoformans* vs *C.grubii* ont été mis en essai avec un pourcentage d'identification de 98,8 [46].

##### Les champignons filamenteux

Des études réalisées récemment ont montré des résultats favorables concernant l'identification des moisissures spécialement l'*Aspergillus spp* et les dermatophytes par la technique de MALDI TOF [47].

##### Les filaments non dermatophytes : Moisissures

Prenons l'étude de Carolis et al qui ont utilisé le système Biotyper\* pour identifier 80 isolats d'*Aspergillus* (31 espèces). En effet 77 isolats ont été identifiés avec succès qui est un pourcentage de 96,2% [48]. Ces résultats sont concordants avec ceux d'Alanio et al, menée sur 140 isolats d'*Aspergillus* (28 espèces) avec un pourcentage d'identification atteignant les 98,6% (138 isolats) par le système Andromas\*[49].

Il en est de même pour le *Scedosporium spp*, *Fusarium spp* et les *Mucorales* dont le MALDI TOF permet une détection précise aussi bien du genre que des espèces. Au cours de leur étude sur 50 isolats de *Scedosporium* (six espèces), Sitterlé et al [50] ont utilisé le système Andromas\* qui a permis la détection de 48 espèces (96%). Concernant le *Fusarium spp*, il a été détecté à 100% par le système Biotyper\* au cours de deux études différents [14,15]. Une même étude de Carolis et al [48] sur sept isolats de Mucorale a montré une détection de 100%.

Une autre étude réalisée au CHRU de Besançon pour évaluer les compétences du MALDI TOF en matière d'identification des champignons filamenteux en utilisant le système BRUCKER sur une série de 46 souches dont 24 moisissures : Six *Aspergillus spp.*, sept *Mucorales*, sept *Fusarium spp*, un *Scybalidium dimidiatum*, un *Scopulariopsis brevicaulis*, un *Scedosporium apiopsermum*. Toutes les espèces d'*Aspergillus sp.* ont été identifiées à l'exception de la *A. glaucus* qui ne figurait pas sur le système de base. Les espèces de *Fusarium sp* et les *Mucorales* ont été identifiés dans tous les cas [51].

### **Les dermatophytes**

Neuf études ont été consacrées à l'identification des dermatophytes par MALDI-TOF MS. L'une d'entre elles a utilisé le système système Andromas\*, deux ont utilisé le système Saramis\*, deux autres le Vitek\* MS et quatre ont utilisé le système MALDI Biotyper\*. Notamment, les neuf études ont établi leur propre base de données de référence sur les dermatophytes [52].

Les performances du système Andromas pour l'identification des dermatophytes sont uniquement basées sur l'étude de Alshawa et al, [53] dans laquelle ils ont obtenu 91,9% d'identification correcte pour 360 dermatophytes correspondant à huit espèces différentes après une étape d'extraction à l'acide formique. Bien que ces résultats soient encourageants, le délai d'incubation de trois semaines semble non adapté à des fins de diagnostic clinique. Les deux études réalisées avec les systèmes Saramis comprenaient un dépôt direct de matériel recouvert d'une matrice, ce qui a permis d'obtenir des taux d'identification significativement élevés, 100 % pour Erhard et al calculé à partir de 20 isolats seulement [54] et 99,3 % pour Nenoff et al [55]. Cependant, le taux d'identification rapporté par Nenoff et al reste très discutable car il a été obtenu en identifiant des sous-cultures des isolats utilisés pour construire la base de données.

En utilisant le système Vitek MS, De Respinis et al. [56] sont arrivés à identifier 88,5 % des 131 isolats cliniques extraits à l'aide d'acide formique/acétonitrile. Lors d'une autre étude, De Respinis et al. [57] ont développé une méthode d'extraction avec une étape de séparation des lipides et des protéines en utilisant du méthanol/chloroforme et ont identifié 95,8 % des isolats de 141 dermatophytes.

En ce qui concerne le système MALDI Biotyper, les quatre études ont impliqué une étape d'extraction complète à l'acide formique/acétonitrile mais ont utilisé des temps de croissance différents allant de 72h [58] à 14 jours [59]. En utilisant une base de données comprenant 48 isolats correspondant à 17 espèces de dermatophytes, L'Ollivier et al ont obtenu un taux d'identification de 97,76%. Packeu et al. ont identifié 100 % des isolats cliniques en utilisant une base de données de dermatophytes de 195 isolats de dermatophytes [60].

Ces études démontrent qu'il est possible d'identifier les dermatophytes à l'aide de la spectrométrie de masse MALDI-TOF dans le laboratoire clinique de routine. Les principales limites sont la nécessité d'améliorer les bases de données qui ne sont actuellement pas incluses dans les systèmes commerciaux et les difficultés à différencier des espèces étroitement liées. Dans le laboratoire clinique, une étape de prétraitement complet à l'acide formique/acétonitrile après 72 h de croissance, associée à la construction d'une base de données efficace, s'avère être le meilleur choix, car elle combine une grande rapidité et une grande facilité d'utilisation [52].

## **V. Conclusion**

L'utilisation de la spectrométrie de masse MALDI-TOF pour l'identification des champignons a débuté au 21<sup>e</sup> siècle. Il y a cinq ans, les études publiées se limitaient à quelques taxons fongiques et aucun système ne permettait l'identification de nombreux champignons couramment rencontrés dans la pratique clinique. Aujourd'hui, les systèmes commerciaux surpassent sans aucun doute les techniques conventionnelles pour l'identification des levures, bien que de légères améliorations des bases de données de référence soient nécessaires, en particulier pour les espèces *Cryptococcus*, *Trichosporon* et *Malassezia*. En ce qui concerne les champignons filamenteux, des taux d'identification élevés ont été rapportés par plusieurs groupes, mais en utilisant que des bases de données internes. La construction de bases de données améliorées prend du temps et n'est possible seulement dans les centres équipés à la fois de la technologie MALDI-TOF et d'une expertise en mycologie.

Malgré les succès de la spectrométrie de masse MALDI TOF dans l'identification des espèces microbiennes, l'application en parasitologie reste difficile et limitée à des bases de données internes intégrées à des bases de données commerciales. Il n'existe pas d'outil logiciel commercial ou de base de données de référence pour la parasitologie. Cependant, la plupart des rapports réussis sont basés sur les principes, les procédures, les logiciels et les bases de données les mieux décrits pour les micro-organismes. Les facteurs cruciaux qui influencent le typage MALDI MS en parasitologie comprennent les paramètres associés au spécimen, les procédures de préparation des échantillons et les paramètres de mesure.

## **References**

- [1] Maldi-Tof Mass Spectrometry As A Diagnostic Tool In Human And Veterinary Helminthology: A Systematic Review Maureen Feucherolles, Sven Poppert, Jürg Utzinger And Sören L. Becker1. 2019
- [2] Anhalt Jp, Fenselau C. Identification Of Bacteria Using Mass Spectrometry Techniques. *Anal Chem.* 1975;47:219–25.
- [3] Clark Ae, Kaleta Ej, Arora A, Wolk Dm. Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time Of Flight Mass Spectrometry: A Fundamental Shift In The Routine Practice Of Clinical Microbiology. *Clin Microbiol Rev.* 2013;26:547–603
- [4] Angeletti S. Matrix Assisted Laser Desorption Time Of Flight Mass Spectrometry (Maldi-Tof Ms) In Clinical Microbiology. *J Microbiol Methods.* 2017;138:20–9.
- [5] El Khéchine A, Couderc C, Flaudrops C, Raoult D, Drancourt M. Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Fight Mass Spectrometry Identification Of Mycobacteria In Routine Clinical Practice. *Plos One.* 2011;6:E24720.
- [6] Sjöholm Mil, Dillner J, Carlson J. Multiplex Detection Of Human Herpesviruses From Archival Specimens By Using Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time Of Flight Mass Spectrometry. *J Clin Microbiol.* 2008;46:540–5.

- [7] .Yssouf A, Almeras L, Raoult D, Parola P. Emerging Tools For Identification Of Arthropod Vectors. *Future Microbiol.* 2016;11:549–66.
- [8] Vega-Rúa A, Pagès N, Fontaine A, Nuccio C, Hery L, Goindin D, Et Al. Improvement Of Mosquito Identification By Maldi-Tof Ms Biotyping Using Protein Signatures From Two Body Parts. *Parasit Vectors.* 2018;11:574
- [9] Cassagne C, Pratlong F, Jeddi F, Benikhlef R, Aoun K, Normand A-C, Et Al. Identification Of Leishmania At The Species Level With Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20:551–7
- [10] Lachaud L, Fernández-Arévalo A, Normand Ac, Lami P, Nabet C, Donnadiou JI, Et Al. Identification Of Leishmania By Maldi-Tof Mass Spectrometry Using A Free Web-Based Application And A Dedicated Mass Spectral Library. *J Clin Microbiol.* 2017;55:2914–33.
- [11] Villegas En, Glassmeyer St, Ware Mw, Hayes Sl, Schaefer Fw. Matrixassisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Fight Mass Spectrometrybased Analysis Of Giardia Lamblia And Giardia Muris. *J Eukaryot Microbiol.* 2006;53:S179–81.
- [12] Magnuson MI, Owens Jh, Kely Ca. Characterization Of Cryptosporidium Parvum By Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time Of Fight Mass Spectrometry. *Appl Environ Microbiol.* 2000;66:4720–4.
- [13] Avila Cc, Almeida Fg, Palmisano G. Direct Identification Of Trypanosomatids By Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time Of Fight Mass Spectrometry (Dit Maldi-Tof Ms). *J Mass Spectrom.* 2016;51:549–57.
- [14] Gitau En, Kokwaro Go, Newton Cr, Ward Sa. Global Proteomic Analysis Of Plasma From Mice Infected With Plasmodium Berghei Anka Using Two Dimensional Gel Electrophoresis And Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time Of Fight Mass Spectrometry. *Malar J.* 2011;10:205
- [15] Calderaro A, Buttrini M, Montecchini S, Rossi S, Piccolo G, Arcangeletti Mc, Et Al. Maldi-Tof Ms As A New Tool For The Identification Of Dientamoeba Fragilis. *Parasit Vectors.* 2018;11:11.
- [16] Dib L, Benakhla A, Raoult D, Parola P. Maldi-Tof Ms Identification Of Ticks Of Domestic And Wild Animals In Algeria And Molecular Detection Of Associated Microorganisms. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2018;57:39–49.
- [17] El Hamzaoui B, Laroche M, Almeras L, Bérenger J-M, Raoult D, Parola P. Detection Of Bartonella Spp. In Feas By Maldi-Tof Ms. *Plos Negl Trop Dis.* 2018;12:E0006189.
- [18] Tandina F, Laroche M, Davoust B, Doumbo Ok, Parola P. Blood Meal Identification In The Cryptic Species Anopheles Gambiae And Anopheles Coluzzii Using Maldi-Tof Ms. *Parasite.* 2018;25:40.
- [19] Maldi-Tof Ms Profiling-Advances In Species Identification Of Pests, Parasites, And Vectors Jayaseelan Murugaiyan And Uwe Roesler. 2017
- [20] Clark, A. E., Kaleta, E. J., Arora, A., And Wolk, D. M. (2013). Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time Of Flight Mass Spectrometry: A Fundamental Shift In The Routine Practice Of Clinical Microbiology. *Clin. Microbiol. Rev.* 26, 547–603 Doi: 10.1128/Cmr.00072-12.
- [21] Karlsson, R., Gonzales-Siles, L., Boulund, F., Svensson-Stadler, L., Skovbjerg, S., Karlsson, A., Et Al. (2015). Proteotyping: Proteomic Characterization, Classification And Identification Of Microorganisms - A Prospectus. *Syst. Appl. Microbiol.* 38, 246–257. Doi: 10.1016/J.Syapm.2015.03.006
- [22] Rémi Moreda – Lycée Docteur Lacroix – Narbonne – 2015. Académie De Montpellier. <https://pedagogie.ac-montpellier.fr/identification-de-micro-organismes-par-spectrometrie-de-masse-maldi-tof-ms>.
- [23] Maldi-Tof Ms In Clinical Parasitology: Applications, Constraints And Prospects Neelja Singhal , Manish Kumar And Jugsharan Singh Virdi. 2016
- [24] Dedet, J. P. And Pratlong, F. (2009). Leishmaniasis. In *Manson's Tropical Diseases* (Eds Cook, G. C & Zumla, A.), Pp. 1341–1365. Elsevier Science Limited, Saunders, London.
- [25] Pratlong, F., Dereure, J., Ravel, C., Lami, P., Balard, Y., Serres, G., Lanotte, G., Rioux, J. A. And Dedet, J. P. (2009). Geographical Distribution And Epidemiological Features Of Old World Cutaneous Leishmaniasis Foci, Based On The Isoenzyme Analysis Of 1048 Strains. *Tropical Medicine And International Health* 14, 1071–1085.
- [26] Montalvo, A. M., Fraga, J., Monzote, L., Montano, I., De Doncker, S., Dujardin, J. C. And Van Der Auwera, G. (2010). Heatshock Protein 70 Pcr-Rflp: A Universal Simple Tool For Leishmania Species Discrimination In The New And Old World. *Parasitology* 137, 1159–1168.
- [27] Culha, G., Akyar, I., Yildiz Zeyrek, F., Kurt, Ö., Gündüz, C., Özensoy Töz, S., Östan, I., Cavus, I., Gülkan, B., Kocagöz, T., Özbek, Y. And Özbilgin, A. (2014). Leishmaniasis In Turkey: Determination Of Leishmania Species By Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-Of-flight Mass Spectrometry (Maldi-Tof Ms). *Iranian Journal Of Parasitology* 9, 239–248.
- [28] Mouri, O., Morizot, G., Van Der Auwera, G., Ravel, C., Passet, M., Chartrel, N., Joly, I., Thellier, M., Jauréguiberry, S., Caumes, E., Mazier, D., Marinach-Patrice, C. And Buffet, P. (2014). Easy Identification Of Leishmania Species By Mass Spectrometry. *Plos Neglected Tropical Diseases* 8, E2841.
- [29] Magnuson, M. L., Owens, J. H. And Kely, C. A. (2000). Characterization Of Cryptosporidium Parvum By Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time Of Flight Mass Spectrometry. *Applied And Environmental Microbiology* 66, 4720–4724.
- [30] Glassmeyer, S. T., Ware, M. W., Schaefer, F. W., Iii, Shoemaker, J. A. And Kryak, D. D. (2007). An Improved Method For The Analysis Of Cryptosporidium Parvum Oocysts By Matrix-Assisted Laser Desorption/ Ionization Time Of Flight Mass Spectrometry. *Journal Of Eukaryotic Microbiology* 54, 479–481.
- [31] Neelja Singhal , Manish Kumar And Jugsharan Singh Virdi. Maldi-Tof Ms In Clinical Parasitology: Applications, Constraints And Prospects.2016
- [32] Erhaar, N., Wentinkbonnema, E., Moens, C. And Van Gool, T. (2014). Subtype Determination Of Blastocystis Isolates By Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation Time-Of-Flight Mass Spectrometry (Maldi-Tof Ms). *European Journal Of Clinical Microbiology And Infectious Diseases* 33, 529–536.
- [33] Calderaro, A., Gorrini, C., Bommezzadri, S., Piccolo, G., Dettori, G. And Chezzi, C. (2006).Entamoeba Histolytica And Entamoeba Dispar: Comparison Of Two Pcr Assays For Diagnosis In A Non-Endemic Setting. *Transactions Of The Royal Society Of Tropical Medicine And Hygiene* 100, 450–457.
- [34] Bitam, I., Dittmar, K., Parola, P., Whiting, M. F. And Raoult, D. (2010). Fleas And Flea-Borne Diseases. *International Journal Of Infectious Diseases* 14, E667–E676.
- [35] Yssouf, A., Almeras, L., Terras, J., Socolovschi, C., Raoult, D. And Parola, P. (2015a). Detection Of Rickettsia Spp. In Ticks By Maldi-Tof Ms. *Plos Neglected Tropical Diseases* 9, E0003473.
- [36] Yssouf, A., Flaudrops, C., Drali, R., Kernif, T., Socolovschi, C., Berenger, J. M., Raoult, D. And Parola, P. (2013). Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time Of Flight Mass Spectrometry For Rapid Identification Of Tick Vectors. *Journal Of Clinical Microbiology* 51, 522–528.
- [37] Yssouf, A., Almeras, L., Berenger, J. M., Laroche, M., Raoult, D. And Parola, P. (2015b). Identification Of Tick Species And Disseminate Pathogen Using Hemolymph By Maldi-Tof Ms. *Ticks And Tick Borne Diseases* 6, 579–586.

- [38] Amiri-Eliasi B, Fenselau C. Characterization Of Protein Biomarkers Desorbed By Maldi From Whole Fungal Cells. *Anal Chem* 2001;73:5228—31.
- [39] Li Ty, Liu Bh, Chen Yc. Characterization Of Aspergillus Spores By Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2000;14:2393—400. [Http://Dx.Doi.Org/10.1002/1097-0231\(20001230\)14:243.0.Co;2-9](http://Dx.Doi.Org/10.1002/1097-0231(20001230)14:243.0.Co;2-9).
- [40] Welham Kj, Domin Ma, Johnson K, Jones L, Ashton Ds. Characterization Of Fungal Spores By Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2000;14:307—10. [Http://Dx.Doi.Org/10.1002/\(Sici\)1097-0231\(20000315\)14:53.0.Co;2-3](http://Dx.Doi.Org/10.1002/(Sici)1097-0231(20000315)14:53.0.Co;2-3).
- [41] Bader O. Maldi-Tof-Ms-Based Species Identification And Typing Approaches In Medical Mycology. *Proteomics* 2013;13:788—99.
- [42] Posteraro B, Vella A, Cogliati M, De Carolis E, Florio Ar, Et Al. A Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time Of Flight Mass Spectrometry (Maldi-Tof Ms)-Based Method For Discrimination Between Molecular Types Of Cryptococcus Neoformans And Cryptococcus Gattii. *J Clin Microbiol* 2012;50:2472—6.
- [43] Firacative C, Trilles L, Meyer W. Maldi-Tof Ms Enables The Rapid Identification Of The Major Molecular Types Within The Cryptococcus Neoformans/C. Gattii Species Complex. *Plos One* 2012;7. [Http://Dx.Doi.Org/10.1371/Journal.Pone.0037566.T001.E37566](http://Dx.Doi.Org/10.1371/Journal.Pone.0037566.T001.E37566).
- [44] Bader O, Weig M, Taverne-Ghadwal L, Lugert R, Gross U, Et Al. Improved Clinical Laboratory Identification Of Human Pathogenic 80 A. Alanio Yeasts By Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry. *Clinmicrobiol Infect* 2011;17:1359—65. [Http://Dx.Doi.Org/10.1111/J.1469-0691.2010.03398.X](http://Dx.Doi.Org/10.1111/J.1469-0691.2010.03398.X).
- [45] Lohmann C, Sabou M, Moussaoui W, Prévost G, Delarbre J-M, Et Al. Comparison Between The Biflex Iii-Biotyper And The Axima-Saramis Systems For Yeast Identification By Maldi-Tof Mass Spectrometry. *J Clin Microbiol* 2013. [Http://Dx.Doi.Org/10.1128/Jcm.03268-12](http://Dx.Doi.Org/10.1128/Jcm.03268-12).
- [46] Mctaggart Lr, Lei E, Richardson Se, Hoang L, Fothergill A, Et Al. Rapid Identification Of Cryptococcus Neoformans And Cryptococcus Gattii By Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time Of Flight Mass Spectrometry. *J Clin Microbiol* 2011;49:3050—3. [Http://Dx.Doi.Org/10.1128/Jcm.00651-11](http://Dx.Doi.Org/10.1128/Jcm.00651-11).
- [47] La Spectrométrie De Masse De Type Maldi-Tof En Mycologie Clinique : Avantages Réels, Écueils Potentiels. *Maldi-Tof Mass Spectrometry In Medical Mycology: Real Advantages And Potential Pitfalls A. Alanio. 2013*
- [48] De Carolis E, Posteraro B, Lass-Flörl C, Et Al. (2011) Species Identification Of Aspergillus, Fusarium And Mucorales With Direct Surface Analysis By Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry. *Clin Microbiol Infect* Jul 27.
- [49] Alanio A, Beretti JI, Dauphin B, Et Al. (2011) Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry For Fast And Accurate Identification Of Clinically Relevant Aspergillus Species. *Clin Microbiol Infect* 17: 750-5.
- [50] Sitterlé E, Bouchara Jp, Dauphin B, Et Al. (2011) Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry For Fast And Accurate Identification Of Clinically Relevant Scedosporium Species. *Second Meeting Of The Ecmm/Isham Working Group Fungal Respiratory Infections In Cystic Fibrosis (Fri-Cf) Angers (France)*.
- [51] Contribution Du Maldi-Tof Pour L'identification Des Filamenteux En Routine Au Chru De Besanc, On Anne-Pauline Bellanger , Cindy Maire, Mallory Vacheyrou , Isabelle Vieille , Gabriel Reboux , Laurence Millon Université Bourgogne Franche-Comté, Chru De Besançon, France.2017.
- [52] Performance Of Maldi-Tof Ms Platforms For Fungal Identification. Carole Cassagne, Anne-Cecile Normand, Coralie L'ollivier, Stephane Ranque And Renaud Piarroux.
- [53] Alshawa K, Beretti J-L, Lacroix C Et Al. Successful Identification Of Clinical Dermatophyte And Neoscytalidium Species By Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time Of Flight Mass Spectrometry. *J Clin Microbiol* 2012; 50: 2277—81.
- [54] Erhard M, Hipler U-C, Burmester A, Brakhage Aa, Wostemeyer J. Identification Of Dermatophyte Species Causing Onychomycosis And Tinea Pedis By Maldi-Tof Mass Spectrometry. *Exp Dermatol* 2008; 17: 356—61.
- [55] Nenoff P, Erhard M, Simon Jc Et Al. Maldi-Tof Mass Spectrometry - A Rapid Method For The Identification Of Dermatophyte Species. *Med Mycol* 2013; 51: 17—24.
- [56] De Respini S, Monnin V, Girard V Et Al. Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time Of Flight (Maldi-Tof) Mass Spectrometry Using The Vitek Ms System For Rapid And Accurate Identification Of Dermatophytes On Solid Cultures. *J Clin Microbiol* 2014; 52: 4286—92.
- [57] De Respini S, Tonolla M, Pranghofer S, Petrini L, Petrini O, Bosshard Pp. Identification Of Dermatophytes By Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry. *Med Mycol* 2013; 51: 514—21.
- [58] L'ollivier C, Cassagne C, Normand A-C Et Al. A Maldi-Tof Ms Procedure For Clinical Dermatophyte Species Identification In The Routine Laboratory. *Med Mycol* 2013; 51: 713—20.
- [59] Packeu A, Hendrickx M, Beguin H, Martiny D, Vandenberg O, Detandt M. Identification Of The Trichophyton Mentagrophytes Complex Species Using Maldi-Tof Mass Spectrometry. *Med Mycol* 2013; 51: 580—5.
- [60] Packeu A, De Bel A, L'ollivier C, Ranque S, Detandt M, Hendrickx M. Fast And Accurate Identification Of Dermatophytes By Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time Of Flight Mass Spectrometry: Validation In The Clinical Laboratory. *J Clin Microbiol* 2014; 52: 3440—3.