

# AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

臨牀病理 (2013.05) 61巻5号:382～389.

Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) 2機種による血液培養分離菌の同定成績について

伊藤 栄祐・渡 智久・東 由桂・渡辺 直樹・友田 豊・赤  
坂 和美・紀野 修一

**【表題】**

Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) 2機種による血液培養分離菌の同定成績について

**【著者名】**

伊藤 栄祐・渡 智久・東 由桂・渡辺 直樹・友田 豊・  
赤坂 和美・紀野 修一

**【所属】**

旭川医科大学病院 臨床検査・輸血部

**【所在地】**

北海道旭川市緑が丘東2条1丁目1番1号

**【連絡著者】**

伊藤 栄祐

Tel: 0166-69-3364

E-mail: [e-itou@asahikawa-med.ac.jp](mailto:e-itou@asahikawa-med.ac.jp)

**【英文表題】**

Performance of two matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) models for identification of bacteria isolated from blood culture

**【英文抄録】**

We compared the results of two bacterial identification methods: 1) a traditional method based on phenotypic identification of the causative organism using gram-staining, culture and biochemical markers and 2) matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS).

A total of 111 isolates, including 107 strains of common bacteria species and 4 strains of 3 yeast species, were tested by the traditional method and MALDI-TOF MS method (VITEK MS and Micro flex LT). Data obtained using MALDI-TOF MS were classified as Level 1 and Level 2 according to the confidence level of identification results from the VITEK MS ver. 1.0 database (VITEK MS) and MALDI Biotyper ver. 2.0 database (Microflex LT).

The proportions of measured samples identified as Level 1 were 98.2% with the VITEK MS database and 87.4% with the MALDI Biotyper database. The concordance rates of the traditional method were 93.7% with the VITEK MS database and 82.0% with the MALDI Biotyper database. Identification results of five strains were mismatched between the traditional method and MALDI-TOF MS. Their ribosomal RNA sequences were identical to the results obtained from MALDI-TOF MS.

We concluded that the performance of VITEK MS is superior to that of the traditional method and Microflex LT.

**【Key Words】**

matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass

spectrometry : MALDI-TOF MS (マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析計)、blood culture (血液培養)、identification (同定)

## I. 緒言

MALDI-TOF MS (マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析計) はイオン化された蛋白質の質量によって、一定距離を飛行した時に要する検出器までの到達時間に差が生じることを原理とした質量分析計である。近年、MALDI-TOF MS は測定の簡便さと、同定結果が数分で得られる迅速性から、新しい細菌同定法として期待されており<sup>1)</sup>、現在、本邦では2機種が医療機器として承認を受けている。本検討では細菌検査室に提出される臨床材料の中で、より迅速同定が求められる血液培養分離菌について、MALDI-TOF MS 2機種の間の一貫性を求め、日常検査法との一致率および不一致例についての検討を行った。

## II. 対象

2011年1～4月に当院臨床検査・輸血部に提出された血液培養陽性検体から分離し、マイクロバンク (PRO-LAB DIAGNOSTICS 社) を用いて、-80℃で凍結保存していた一般細菌 21 菌種 107 株、酵母様真菌 3 菌種 4 株の計 111 株を対象とした (Table 1)。

表 1
-----

## III. 方法

## A. 使用菌株

マイクロバンクで凍結保存していた対象菌株を一般細菌はトリプチケースソイ 5%ヒツジ血液寒天培地 (SB、日本ベクトンディッキンソン)、酵母様真菌はクロモアガーカンジダ寒天培地 (CA、関東化学) 上でそれぞれ一晚培養した。さらに、一般細菌は SB で 35°C、18~24 時間、酵母様真菌は CA で 28°C、40~48 時間の継代培養をおこない、寒天培地上に発育したコロニーを測定に使用した。

## B. 測定機器および専用解析ソフト

MALDI-TOF を原理とした測定機器には、VITEK MS (Sysmex Biomerieux 社) および Micro flex LT (BRUKER 社) の 2 機種を使用し、それぞれの専用解析ソフトである VITEK MS ver1.0 および MALDI Biotyper ver2.0 が有するデータベースと 2K~20KDa の解析範囲内に得られたマススペクトルとのマッチングにより同定を行った。

## C. 測定方法

### 1. VITEK MS および MALDI Biotyper

#### (1). 使用試薬

VITEK MS の測定には、専用の MS-CHCA マトリックス試薬、MS-FA 試薬 (ともに Sysmex Biomerieux 社) を使用した。MALDI Biotyper の測定には、専用のマトリックス試薬 (BRUKER 社) と 99.5%エタノール (和光純薬株式会社:HPLC 用)、99.9%アセトニトリル (MERCK 社:LC/MS 用) および 99%ギ酸 (和光純薬株式会

社:LC/MS 用) を蒸留水で希釈した 70%ギ酸溶液を使用した。

## (2). 測定手技

培地上のコロニーを適量ピックアップして、ターゲットプレートのスポットに薄く塗布した。VITEK MS はコロニー乾燥前、MALDI Biotyper はコロニー乾燥後にそれぞれの専用マトリックス試薬を  $1\mu\text{l}$  添加した。その後、スポット内が十分乾燥したことを確認してから測定した。

## (3). 再測定の条件

直接法 (direct method) による単回測定を基本としたが、①VITEK MS で菌名が得られなかった場合、②VITEK MS で同定結果の信頼度が Low discrimination であった場合、③MALDI Biotyper で菌名が得られなかった場合 (score が 1.7 未満)、④MALDI Biotyper で属レベルの信頼度 (score が 1.7~1.999) であるが日常検査法の菌名と異なった場合の 4 つのパターンは、前処理を追加して再測定を行った。ただし、MALDI Biotyper の測定により属レベルの信頼度であったが、日常検査法の同定菌名と一致したものは再測定の対象外とした。

## (4). 再測定時の前処理

VITEK MS は、酵母様真菌を測定する際に用いられる MS-FA 試薬を使用した。コロニーを塗布したスポットに MS-FA 試薬を  $0.5\mu\text{l}$  添加してよく混和し、完全に乾燥する前にマトリックス試薬を添加して測定した (VM-前処理法 :

VM-pretreatment method)。一方、MALDI Biotyper の前処理はメーカー推奨の蛋白抽出処理法を実施した。コロニーをエタノールと 70%ギ酸溶液により処理し、遠心後の上清をスポットに塗布、乾燥後にマトリックス試薬を添加して測定した (MB-抽出法 : MB-extraction method)。

## 2. 日常検査法

日常検査法は、ブドウ球菌属の同定に ID 32 スタフアピ° (Sysmex Biomerieux 社) を使用し、レンサ球菌属と腸球菌属の同定はラピッド ID 32 ストレップアピ° (Sysmex Biomerieux 社) を使用した。また、腸内細菌科とブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌の同定は VITEK GNI+ (Sysmex Biomerieux 社) と BD BBLCRYSTAL E/NF (日本ベクトンディッキンソン社) を使用し、酵母様真菌の同定には ID 32 C アピ° (Sysmex Biomerieux 社) を使用した。

### D. 同定率・一致率の算出について

同定率は、各 MALDI-TOF MS の測定で菌名が得られた割合とした。また、一致率は日常検査法を含めた 3 法の同定菌名をそれぞれ 2 法間で比較し、菌名が合致した割合とした。同定率と一致率は、各機種から得られた同定結果に対する信頼度によって Table 2 に示した Level 1 と Level 2 に分類し、それぞれの割合を求めた。また、同定結果が前述した再測定の条件に該当した菌株は、再測定後の信頼度で Level 1 分類を行い、同定率および一致率を算出した。Level 1 は

VITEK MS による同定菌名が 1 菌種であり、その同定確率が 60～99.9%で信頼度が Good とされるもの、MALDI Biotyper の score が 2.0 以上であり、種レベルでの信頼度が高いとされるものとした。Level 2 は Level 1 の条件に、VITEK MS の同定菌名が 2～4 菌種存在し、同定確率が 60%以上で信頼度が Low discrimination とされるものと、MALDI Biotyper の score が 1.7～1.999 であり、属レベルの信頼度しか得られなかったものを含めた。一致率の算出における例外を Table 3 に示す。VITEK MS では Table 3 右列の菌種に関して、種レベルの区別が出来ないため、全て左列の菌名で表示される。本検討では VITEK MS と他法の一一致率を求める際、VITEK MS で *Acinetobacter baumannii* complex や *Enterobacter cloacae*/*Enterobacter asbriae* と同定されたものについては、MALDI Biotyper および日常検査法により得られた同定菌名がそれぞれ Table 3 右列のいずれかであった場合は同一菌名として扱い、一致率を求めた。これらは、前述した VITEK MS の信頼度分類にて、*Acinetobacter baumannii* complex は Level 1 に、*Enterobacter cloacae*/*Enterobacter asbriae* は Level 2 に該当した。

表 2
-----

表 3
-----

#### IV. 結果

##### A. MALDI-TOF MS 2 機種の一一致率

同定率は Level 1 において VITEK MS が 98.2%、MALDI Biotyper は 87.4%、

Level 2 は VITEK MS が 100%、MALDI Biotyper が 99.1%であった。また、VITEK MS で Level 1 となり、MALDI Biotyper で Level 2 に分類された菌株は 13 株存在した。一方、MALDI Biotyper で Level 1 となり、VITEK MS で Level 2 に分類された菌株は 2 株であった。直接法で菌名が得られず、再測定を行った菌株を Table 4 に示す。最終菌名が *Acinetobacter baumannii* となった菌株が両機種それぞれ 1 株存在し、さらに MALDI Biotyper では MB-抽出法によっても同定不能となった菌株が 1 株存在した。

表 4
-----

#### B. MALDI-TOF MS 2 機種間および日常検査法との一致率

MALDI-TOF MS 2 機種間の Level 1 および Level 2 における一致率および菌種別の一致率を Table 5 に示す。両機種の一一致率は Level 1 で 85.6%、Level 2 で 97.3%であった。Level 1 における菌種別の一致率にはばらつきがみられ、ブドウ球菌属が 89.5%と最も高い一致率を示し、酵母様真菌が 25%と最も低い一致率を示した。腸球菌属と *Pseudomonas* 属は、Level 1 間で一致率に変化を認めなかったが、その他の菌種は、Level 2 の方が高い一致率となった。また、VITEK MS と日常検査法の一一致率は Level 1 で 93.7%、Level 2 では 95.5%であり、MALDI Biotyper と日常検査法の一一致率は Level 1 で 82%、Level 2 では 92.8%であった (Table 6)。

表 5
-----

表 6
-----

#### C. MALDI-TOF MS 2 機種間および日常検査法との不一致例

両機種の間定結果が不一致となった菌株は、*Pseudomonas* 属 1 株と腸球菌属 1 株、さらに MALDI Biotyper で MB-抽出法によっても同定不能となった *Acinetobacter baumannii* 1 株の計 3 株であった (Table 7)。Table 7 中の No. 4114 は VITEK MS の直接法および日常検査法で *Pseudomonas putida*、MALDI Biotyper の直接法で *Pseudomonas plecoglossicida* と同定され、No. 4199 は VM-前処理法および日常検査法で *Enterococcus avium* と同定されたが、MALDI Biotyper の直接法では *Enterococcus malodoratus* と同定された。これらの菌株について 16S rRNA 遺伝子の塩基配列解析を実施したところ、高い相同性を示す細菌が多数存在し、菌種の確定には至らなかった。また、MALDI-TOF MS 2 機種間の菌名が一致し、日常検査法の菌名と不一致を示した菌株は 111 株中 5 株 (4.5%) であった (Table 8)。これらの菌株について 16S rRNA 遺伝子の塩基配列解析を実施したところ、5 株全てが MALDI-TOF MS の同定結果と一致した。

表 7
-----

表 8
-----

## V. 考察

血液培養分離菌の間定は、日常検査において迅速かつ種レベルの間定精度が求められる。従来、細菌の間定はグラム染色やコロニー性状といった形態学的所見、生化学的所見および酵素反応などでみられる性状から行われており、そのプロセスには専門的知識と経験および数日間の検査時間を要してきた。一方、新しい細菌間定法として期待されている MALDI-TOF MS は、その測定原理から検

表 7
-----

表 8
-----

査担当者の知識や技術に関係なく、形成されたコロニーから数分間で細菌の同定が可能になった<sup>2) 3)</sup>。そして、近年、臨床分離株を対象とした各機種と同定成績が報告され、その性能が明らかになってきた<sup>4)~7)</sup>。また、MALDI-TOF MSの迅速性は細菌検査室のワークフローに変化をもたらすと思われ、特に血液培養陽性など、重症感染症における原因菌の同定検査でメリットがあると考えられる。

MALDI-TOF MSは、検査担当者がターゲットプレートに菌を接種したあと、機器に装填するとすべての工程が自動化されており、測定機器が細菌の含有蛋白質を分析し、専用解析ソフトでデータベースとの照合を行うことによって菌名が得られる。そのため、検査担当者がこの同定プロセスにおいて分析結果に影響を与える操作や判断というものは、従来からの生化学的性状などによる同定手法とは異なり存在しない。したがって、MALDI-TOF MSを使用して菌種を確定するときは、同定結果の信頼度をどのように解釈するかが同定精度を左右する大きな要因になる。そこで、本検討では分析結果に対する信頼度を一つのカットオフ値で評価せずに、Level 1とLevel 2の2つに分類し、各々で集計した。Level 1は、グラム染色所見やコロニー性状などの基本性状と矛盾しなければ菌種の確定が可能な信頼度とし、Level 2には菌種の確定に生化学的性状などの追加試験が必要になる信頼度を含めた。その結果、MALDI-TOF MS 2機種と同定成績はLevel 2でほぼ同等の値であったのに対し、Level 1では同定率で10.8%、

日常検査法との一致率で 11.7%の差を認め、いずれも VITEK MS が良好な成績を示した。Martiny D ら<sup>7)</sup>は、直接法による測定で VITEK MS と MALDI Biotyper の同定成績は同等であったと報告しており、VITEK MS の同定成績が優れていたとする我々の検討結果とは異なっている。これは、VITEK MS の同定結果の信頼性を評価するカットオフ値が、本来の設定値よりも厳しく設定されている点や、MALDI Biotyper のデータベースが、一部の菌種で拡充後のバージョン 3.0 を使用している点など、解析条件の違いが影響していると思われる。また、MALDI Biotyper ver 3.0 を使用し、直接法による *Enterococcus* 属菌の同定成績を両機種で比較した研究<sup>8)</sup>では、すべての菌株で 16S rRNA 遺伝子の塩基配列解析と一致した菌名が得られ、我々が使用した MALDI Biotyper ver 2.0 よりも高い同定成績を示している。この報告は、限定された菌種の検討結果ではあるが、MALDI-TOF MS の同定成績がデータベースに高く依存していることが伺える。したがって、今後データベースの拡充が繰り返されるたびに、MALDI-TOF MS の同定成績がさらに向上していくと思われる。

MALDI Biotyper の測定により Level 2 に分類された 13 株は score が 2.000 以上を示さなかったものの、得られた菌名は日常検査法と一致していた。このような結果に対しては追加試験として生化学的性状を確認するか、蛋白抽出処理を実施して再測定する必要があると考えられる。特に、抽出法は種レベルの同

定率を上昇させるとの報告がある<sup>9)~12)</sup>。したがって、Level 2 となった 13 株も前処理を加えることによって、Level 1 の信頼度を得られる可能性がある。また、VITEK MS は再測定前に MS-FA 試薬による処理を行った。この MS-FA 試薬はギ酸を主成分としていることから、本来、厚い細胞壁を有する酵母様真菌の測定でメーカーが推奨している。しかし、ギ酸による細胞壁への障害作用や蛋白を効率的にプロトン化する効果が、一般細菌でも得られることを期待して、この処理を追加した。VITEK MS の直接法で菌名が得られず、MS-FA 試薬による前処理を行ってから再測定した No. 4199 と No. 4225 の 2 株は、いずれも日常検査法と同じ同定菌名が得られた。例数は少ないものの、日常検査に VITEK MS を導入した際の一般細菌に対する簡易的な前処理方法として、MS-FA 試薬を使用することは一定の効果が得られる可能性が考えられた。

MALDI-TOF MS 2 機種間の一致率は Level 1 で 85.6%、Level 2 で 97.3%となり、11.7%の差がみられた。Level 2 の算出でも一致率の上昇を認めなかった腸球菌属と *Pseudomonas* 属は、それぞれ 1 菌種が方法間で異なる菌名を示し、VITEK MS と日常検査法の同定菌名は一致したが MALDI Biotyper とは一致しなかった。しかし、MALDI Biotyper で得られた菌名は VITEK MS と日常検査法のデータベースに存在しておらず、この 2 菌種は 16S rRNA 遺伝子の塩基配列解析によっても鑑別が困難であったことから、最終的な同定菌名を確定するには至らなかった。

一方、MALDI-TOF MS 2 機種と日常検査法による同定菌名が不一致となった菌株の 16S rRNA 遺伝子の塩基配列解析結果は、いずれも MALDI-TOF MS 2 機種の同定菌名と一致した。質量分析により得られたマスペクトルのピークは主に細菌の菌体を構成する蛋白質から得られたもので、その 50~70%は細菌のリボゾーム由来蛋白が占めるとされているため<sup>13)14)</sup>、16S rRNA 遺伝子の塩基配列解析結果と同じ菌名が得られやすいと考えられた。このような質量分析を原理とした細菌同定の特徴から、従来の生化学的性状による同定検査では鑑別困難であった細菌や、誤同定となりやすい細菌の同定成績が向上し、細菌検査室の同定精度維持への貢献が期待できる。

以上のことから、MALDI-TOF MS による細菌同定は日常検査法と同等か、それ以上の同定精度を有していると考えられ、細菌検査の菌名報告に要する時間短縮に貢献できるものと思われた。加えて、VITEK MS は直接法による測定においても日常検査法の同定結果と高い一致率を示したことから、細菌検査室における業務効率化への効果はより大きいと考えられる。さらに、両機種のリファレンスライブラリーは、今後も継続的なバージョンアップが予定されており、その充実に伴い同定成績はさらに向上することが予想される。しかし、測定の簡便さ、迅速性、さらに生化学的性状では鑑別困難な細菌への対応など、いくつかのメリットが考えられる一方で、MALDI-TOF MS の同定結果は必ずしも正確な

菌名であるとは限らないことが今回の検討でも明らかとなった。ゆえに、MALDI-TOF MS の同定結果の信頼性が高いときであっても、患者情報、細菌のグラム染色性や菌形態およびコロニー所見などと矛盾がないかを確認して、最終的に菌名を決定する必要があると思われる。

## VI. 結語

MALDI-TOF MS による細菌同定は細菌検査室のワークフローに大きな変化をもたらし、菌名報告に要する時間短縮が可能となる。さらに、VITEK MS の直接法は日常検査法と同等か、それ以上の同定精度を有しており、簡便性、迅速性、正確性に優れた同定方法であることが明らかとなった。

## 参考文献

- 1) 島圭介. マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析を用いた微生物同定法とは?. *Medical Technology* 2011;39:491-6.
- 2) 宇木望, 永沢善三, 草場耕二, 他. 質量分析装置 MALDI バイオタイパーを使用した各種 ATCC 菌株による同定精度の評価および血液培養ボトルからの直接迅速同定法の有用性に関する検討. *臨床と微生物* 2012;39: 97-107.
- 3) 曾川一幸, 渡邊正治, 佐藤謙一, 他. MALDI-TOF Mass Spectrometry と MALDI BioTyper™ を用いた微生物迅速同定法の評価. *日本臨床検査自動化学会誌* 2012;37:65-73.
- 4) Dubois D, Grare M, Prere M, et al. Performances of the VITEK MS matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry system for rapid identification of bacteria in routine clinical microbiology. *J Clin Microbiol* 2012;50:2568-76.
- 5) Seng P, Drancourt M, Gouriet F, et al. 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.

- 6) Saffert R, Cunningham S, Ihde S, et al. Comparison of Bruker Biotyper Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometer to BD Phoenix Automated Microbiology System for Identification of Gram-Negative Bacilli. *J Clin Microbiol* 2011;49:887-92.
- 7) Martiny D, Busson L, Wybo I, et al. Comparison of the Microflex LT and Vitek MS Systems for Routine Identification of Bacteria by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry. *J Clin Microbiol* 2012;50:1313-25.
- 8) H Fang, A K Ohlsson, M Ullberg, et al. Evaluation of species-specific PCR, Bruker MS, VITEK MS and the VITEK 2 system for the identification of clinical *Enterococcus* isolates. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012;31:3073-77.
- 9) Bizzini A, Durussel C, Bille J, et al. 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* 2012;48:1549-54.

- 10) Alatoom AA, Cunningham SA, Ihde SM, et al. Comparison of Direct Colony Method versus Extraction Method for Identification of Gram-Positive Cocci by Use of Bruker Biotyper Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry. *J Clin Microbiol* 2011;49:2868-73.
- 11) Dubois D, Leyssene D, Chacornac J P, et al. Identification of a Variety of Staphylococcus Species by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry. *J Clin Microbiol* 2010;48:941-5.
- 12) Yan Y, Meng S, Bian D, et al. Comparative Evaluation of Bruker Biotyper and BD Phoenix Systems for Identification of Bacterial Pathogens Associated with Urinary Tract infections. *J Clin Microbiol* 2011;49:3936-9.
- 13) 大楠清文. 質量分析技術を利用した細菌の新しい同定法. *モダンメディア* 2012;58:113-22.
- 14) 島圭介. MALDI-TOF MSによる微生物同定. *島津評論* 2010;66:133-9.

- Table 1 Number of bacteria isolated
  
- Table 2 Classification of identification results by each MALDI-TOF MS
  - No ID : No identification
  
  - NA : Not available
  
- Table 3 Exception of match conditions
  
- Table 4 Strains of required remeasurement for identification
  - No ID : No identification
  
- Table 5 Concordance rate of two MALDI-TOF MS models at Level 1 and Level 2
  
- Table 6 Comparison of identification results obtained by the traditional method and MALDI-TOF MS
  
- Table 7 Comparison of identification results obtained by the traditional method and MALDI-TOF MS for strains with mismatched results between the two MALDI-TOF MS models
  - ※ Identification result by direct method
  
  - ※※ Identification result by VM-pretreatment method
  
  - ※※※ Identification result by MB-extraction method
  
- Table 8 Identification results of 16S rRNA for strains with mismatched results between the traditional method and MALDI-TOF MS

Table 1 Number of bacteria isolated

	Bacterial species	Number of strains
Staphylococci	<i>Staphylococcus aureus</i>	20
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	29
	<i>Staphylococcus hominis</i>	4
	<i>Staphylococcus capitis</i>	1
	<i>Staphylococcus saccharolyticus</i>	1
	<i>Staphylococcus simulans</i>	1
	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1
Streptococci	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2
	<i>Streptococcus anginosus</i>	1
	<i>Streptococcus constellatus</i>	1
	<i>Streptococcus mutans</i>	1
Enterococci	<i>Enterococcus faecalis</i>	3
	<i>Enterococcus faecium</i>	2
	<i>Enterococcus avium</i>	1
Enterobacteriaceae	<i>Escherichia coli</i>	13
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	1
	<i>Enterobacter cloacae</i>	2
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	1
	<i>Proteus mirabilis</i>	2
Non fermented-gram negative rods	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5
	<i>Pseudomonas putida</i>	1
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	7
Yeasts	<i>Candida albicans</i>	1
	<i>Candida glabrata</i>	1
	<i>Candida parapsilosis</i>	1
	<i>Candida guilliermondii</i>	1

(identification results by phenotypic identification)

Table 2 Classification of identification results by each MALDI-TOF MS

Classification		VITEK MS		MALDI Biotyper	
		Confidence Level	%Probability	Confidence Level	Score
	<b>Level 1</b>	Good	60 to 99.9 & 1 choice	Species	> 2.300
				Genus or Species	2.000~2.299
	<b>Level 2</b>	Low discrimination	> 60 & 2 to 4 choice	Genus	1.700~1.999
		No ID	NA	No ID	<1.700

Table 3 Exception of match conditions

Displayed label for subspecies, species or species group	Claimed subspecies or species
<i>Acinetobacter baumannii complex</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> <i>Acinetobacter genomospecies 3</i> <i>Acinetobacter genomospecies TU13</i>
<i>Enterobacter cloacae</i> <i>Enterobacter asburiae</i>	<i>Enterobacter cloacae</i> <i>Enterobacter asburiae</i> <i>Enterobacter cloacae ssp.dissolvens</i>

(Excerpt from VITEK MS Workflow User Manual)

**Table 4** Strains of required remeasurement for identification

Sample number	Traditional method	VITEK MS		MALDI Biotyper	
		direct method	VM-pretreatment method	direct method	MB-extraction method
4099	<i>A. baumannii</i>	<i>A. baumannii</i> complex (99.9%)		No ID	<i>A. baumannii</i> (2.300)
4162	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. pneumoniae</i> (99.9%)		No ID	<i>S. pneumoniae</i> (2.348)
4191	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. parapsilosis</i> (99.9%)		No ID	<i>C. parapsilosis</i> (2.195)
4199	<i>E. avium</i>	No ID	<i>E. avium</i> (99.9%)	<i>E. malodoratus</i> (2.055)	
4225	<i>A. baumannii</i>	No ID	<i>A. baumannii</i> complex (99.9%)	<i>A. baumannii</i> (2.224)	
4236	<i>A. baumannii</i>	<i>A. baumannii</i> complex (99.9%)		No ID	No ID

Table 5 Concordance rate of two MALDI-TOF MS models at Level 1 and Level 2

	Level 1	Level 2
Concordance rate	85.6% (95/111)	97.3% (108/111)
Concordance rate of each bacteria	Level 1	Level 2
Staphylococci	89.5% (51/57)	100% (57/57)
Streptococci	80% (4/5)	100% (5/5)
Enterococci	83.3% (5/6)	83.3% (5/6)
Enterobacteriaceae	84.6% (22/26)	100% (26/26)
Non fermented-gram negative rods		
<i>Pseudomonas</i> sp.	83.3% (5/6)	83.3% (5/6)
<i>Acinetobacter</i> sp.	71.4% (5/7)	85.7% (6/7)
Yeasts	25% (1/4)	100% (4/4)

Table 6 Comparison of identification results obtained by the traditional method and MALDI-TOF MS

		VITEK MS	MALDI Biotyper
Concordance rate	Level 1	93.7% (104/111)	82.0% (91/111)
	Level 2	95.5% (106/111)	92.8% (103/111)

Table 7 Comparison of identification results obtained by the traditional method and MALDI-TOF MS for strains with mismatched results between the two MALDI-TOF MS models

Sample number	VITEK MS	MALDI Biotyper	Traditional method
4114	<i>P. putida</i> * (96.9%)	<i>P. plecoglossicida</i> * (2.142)	<i>P. putida</i>
4199	<i>E. avium</i> ** (99.9%)	<i>E. malodoratus</i> * (2.055)	<i>E. avium</i>
4236	<i>A. baumannii</i> <i>complex</i> * (99.9%)	No ID*** (1.603)	<i>A. baumannii</i>

Table 8 Identification results of 16S rRNA for strains with mismatched results between the traditional method and MALDI-TOF MS

Sample number	VITEK MS & MALDI Biotyper	Traditional method	16S rRNA
4105	<i>S. capitis</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. capitis</i>
4184	<i>S. anginosas</i>	<i>S. constellatus</i>	<i>S. anginosas</i>
4143	<i>S. constellatus</i>	<i>S. anginosas</i>	<i>S. constellatus</i>
4242	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. saccharolyticus</i>	<i>S. epidermidis</i>
4196	<i>S. hominis</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. hominis</i>