

VITEK MS Plus

- IVD KB 3.0
- Saramis 4.15



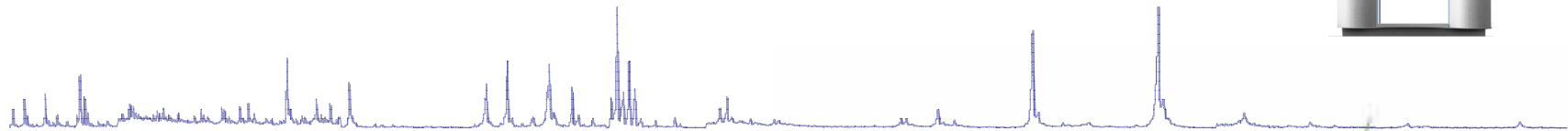
PIONEERING DIAGNOSTICS

Vitek MS™





Introducción: Utilidad del VITEK MS



Introducción: Utilidad del VITEK MS

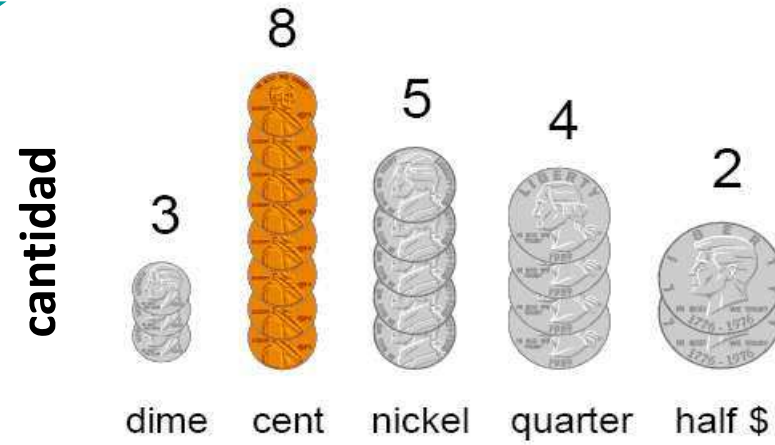
■ Sistema de identificación microbiana

- Bacterias
- Hongos

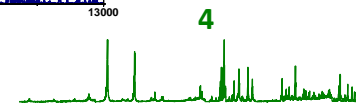
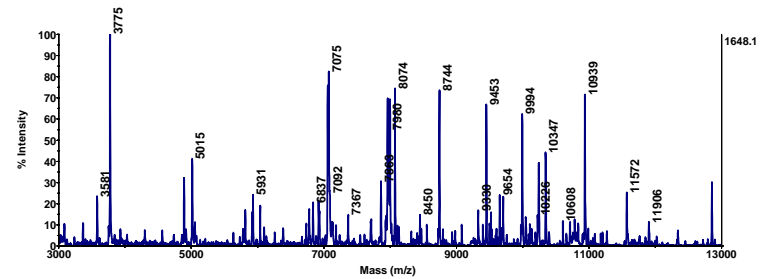
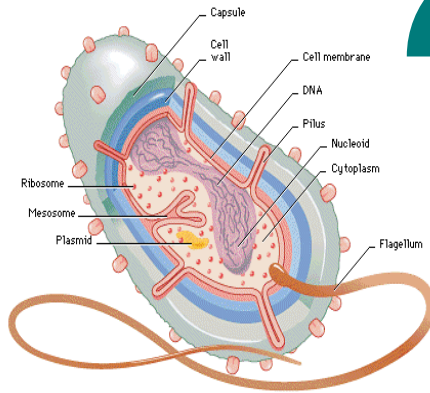
■ Utiliza la técnica **MALDI-TOF**



¿Qué es la Espectroscopía de Masa?



clasificación y recuento



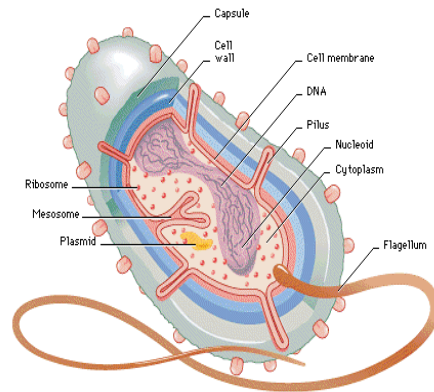
4

¿Qué es la Espectroscopía de Masa?

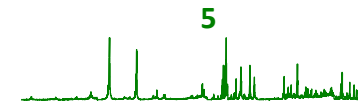
Técnica para determinar la composición elemental de una muestra

MALDI - TOF

Matrix **A**ssisted **L**aser **D**esorption **I**onisation – **T**ime **O**f **F**light

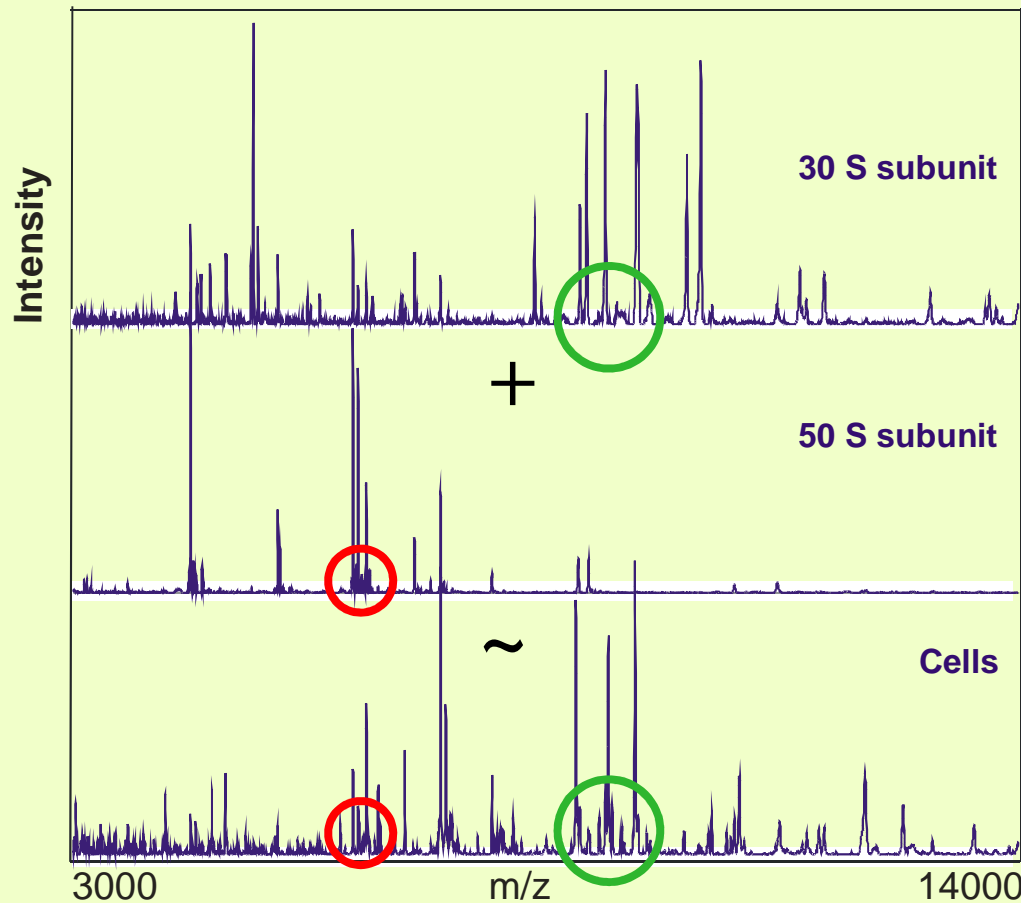


=



¿Qué es la Espectroscopía de Masa?

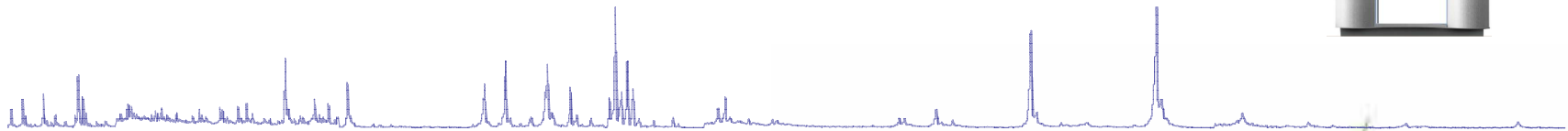
Ejemplo: *Escherichia coli* K12



ribosom subunit 50S m/z	ribosom subunit 30S m/z	Protein Description	Molecular Weight [M+H] m/z
	4364	50S L36	4365,4
	5096	30S S22	5096,8
5380	5380	50S L34	5381,4
6239		50S L33	6241,4
6254	6254	50S L33	6255,4
6315	6315	50S L32	6316,2
6411	6411	50S L30	6411,6
	6857	Protein ycaR	6856,1
6971	6971	50S L31 fragment	6972,1
7158		50S L35	7158,8
7274	7274	50S L29	7274,5
7872		50S L31	7872,1
	8370	30S S21	8369,8
8877		50S L28	8876,3
8994		50S L27	8994,3
	9192	30S S16	9191,6
	9556	30S S20	9554,2
	9575	30S S17	9574,3
	10300	30S S19	10300,1
10694		50S L25	10694,5
		50S L24	11186,0
	11454	30S S14	11450,3
	11739	30S S10	11736,6
		50S L22	12227,3
		50S L18	12770,7
	12974	30S S13	12969,2
	14001	30S S8	13996,4
	14737	30S S9	14726,0



1. Descripción de la técnica



Una larga historia...

Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation – Time Of Flight

Desarrollado en 1980

por Karas & Hillenkamp en Alemania y Tanaka et al en Japón

Anal. Chem. 1988, 60, 2301–2303

Laser Desorption Ionization of Proteins with Molecular Masses
Exceeding 10 000 Daltons

Michael Karas*
Franz Hillenkamp

Protein and Polymer Analyses up to m/z 100 000
by Laser Ionization Time-of-flight Mass
Spectrometry

Koichi Tanaka[†], Hiroaki Waki, Yutaka Ido, Satoshi Akita, Yoshikazu Yoshida
and Tamio Yoshida

Shimadzu Corporation, Nishinokyo-Kuwabaracho, Nakagyo-ku, Kyoto 604, Japan

RAPID COMMUNICATIONS IN MASS SPECTROMETRY, VOL. 2, NO. 8, 1988 151

Primer instrumento comercial en 1991

Premio Nobel de Química

K. Tanaka
Chemistry 2002
MALDI



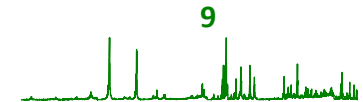
MALDI-TOF: Concepto

el
Concepto:

**Mezcla de un analito
y la matriz**

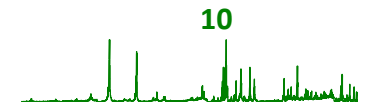
el
Resultado:

**Generación de iones
en fase gaseosa**

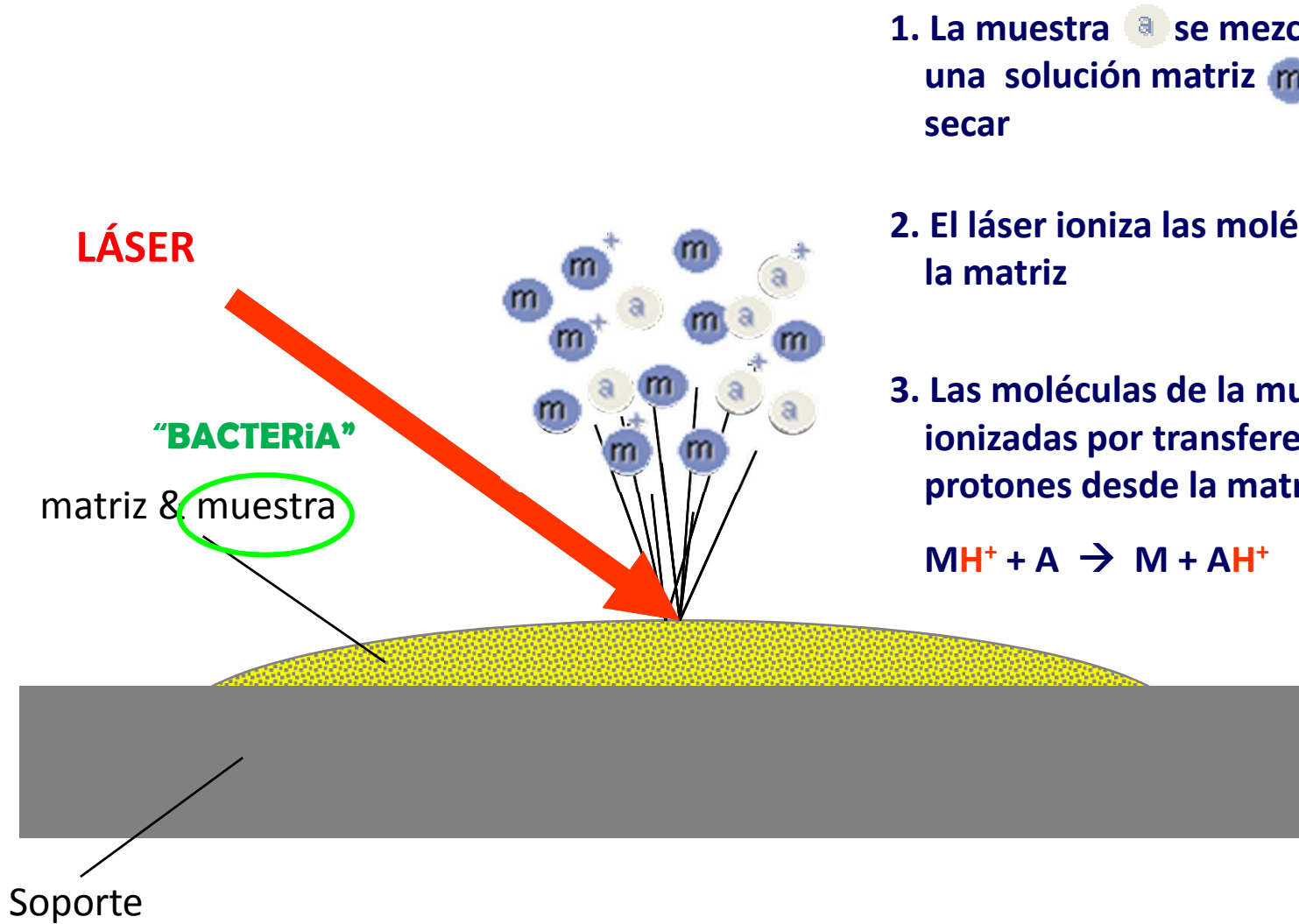


MALDI-TOF

Consiste en la ionización de los compuestos químicos generando moléculas cargadas, para luego medir su relación “masa/carga”



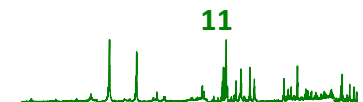
MALDI-TOF: principio



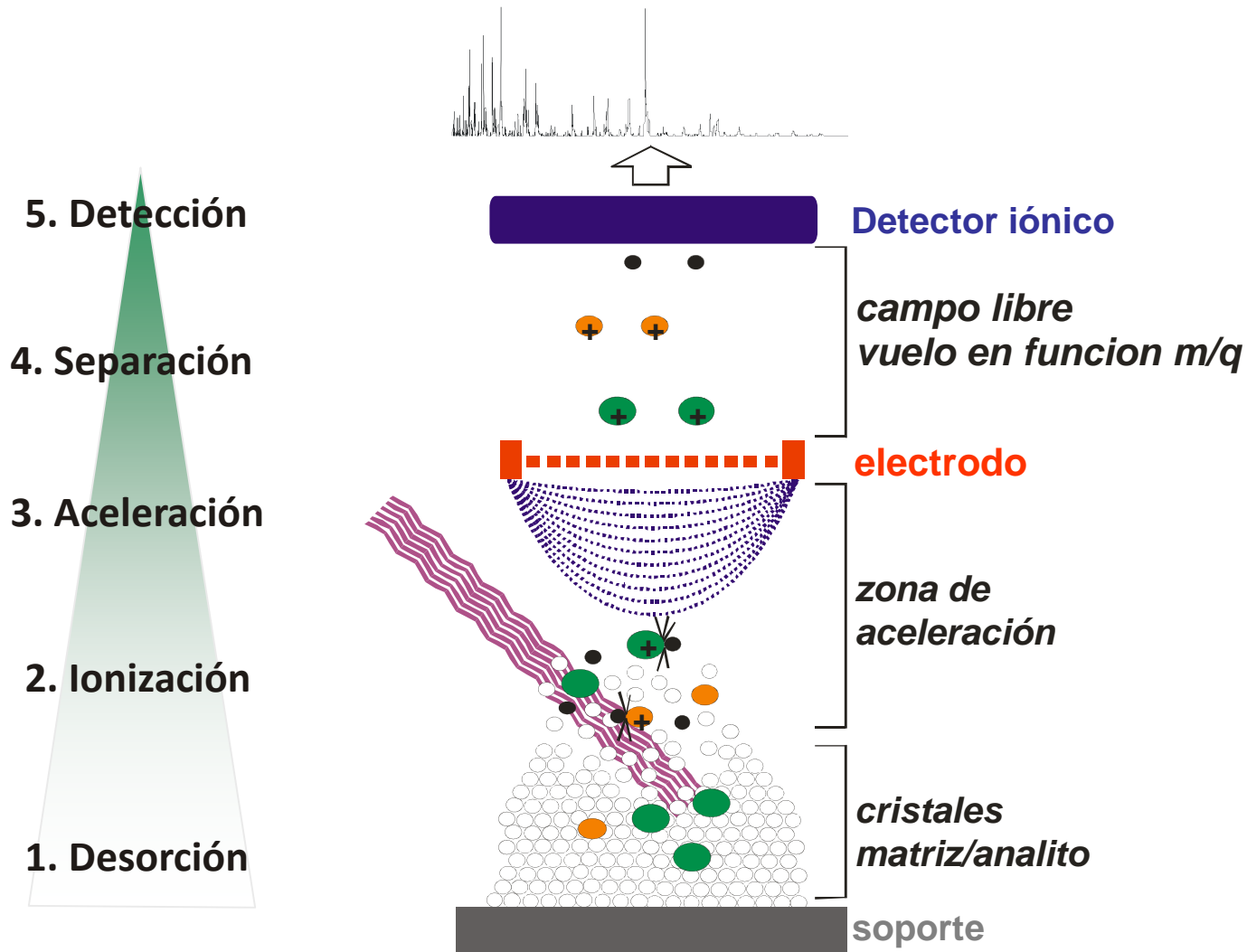
1. La muestra **a** se mezcla con una solución matriz **m** y se deja secar

2. El láser ioniza las moléculas de la matriz

3. Las moléculas de la muestra son ionizadas por transferencia de protones desde la matriz:

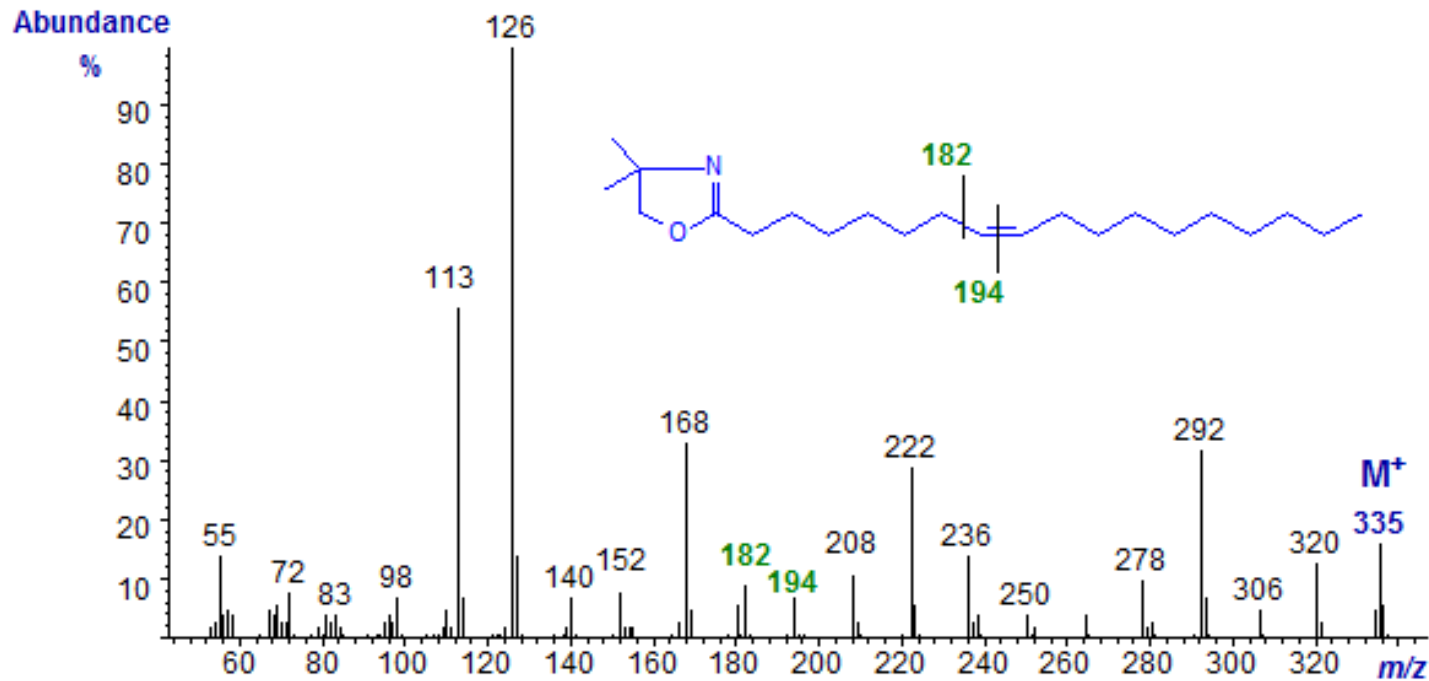


MALDI-TOF: principio



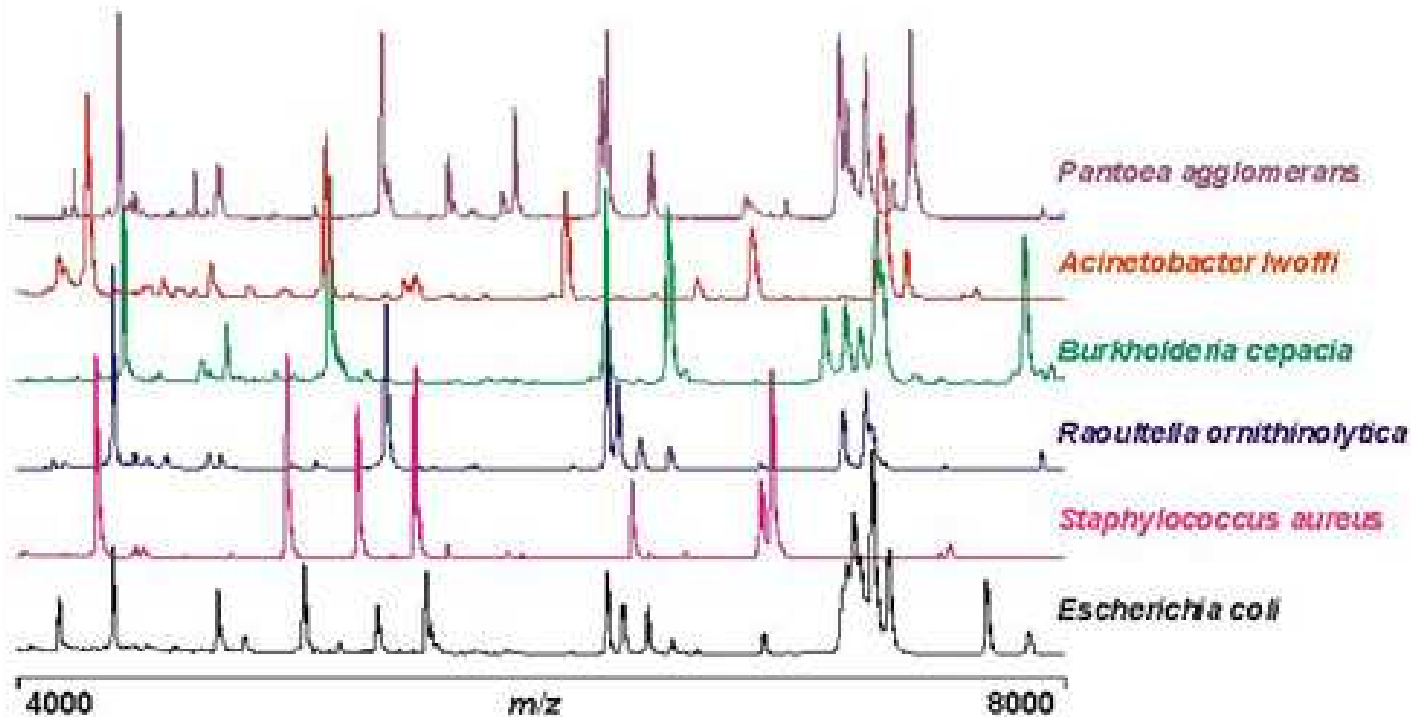
MALDI-TOF: principio

- Posteriormente estos datos generados son comparados con la base de datos.



Cada especie posee un patrón de picos diferente y característico

→ Lo que permite la Identificación de cada organismo



¿Por qué la espectrometría de masa para la identificación microbiana ?



!!!Rápidez!!!!

Entre 45" y 1'30" por aislamiento



30 muestras en aprox. media hora



Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry, a revolution in clinical microbial identification

*A. Bizzini¹, G. Greub^{1,2}
Article first published online: 15 JUL 2010*



Costo eficiente



Técnica establecida



Tecnología verde

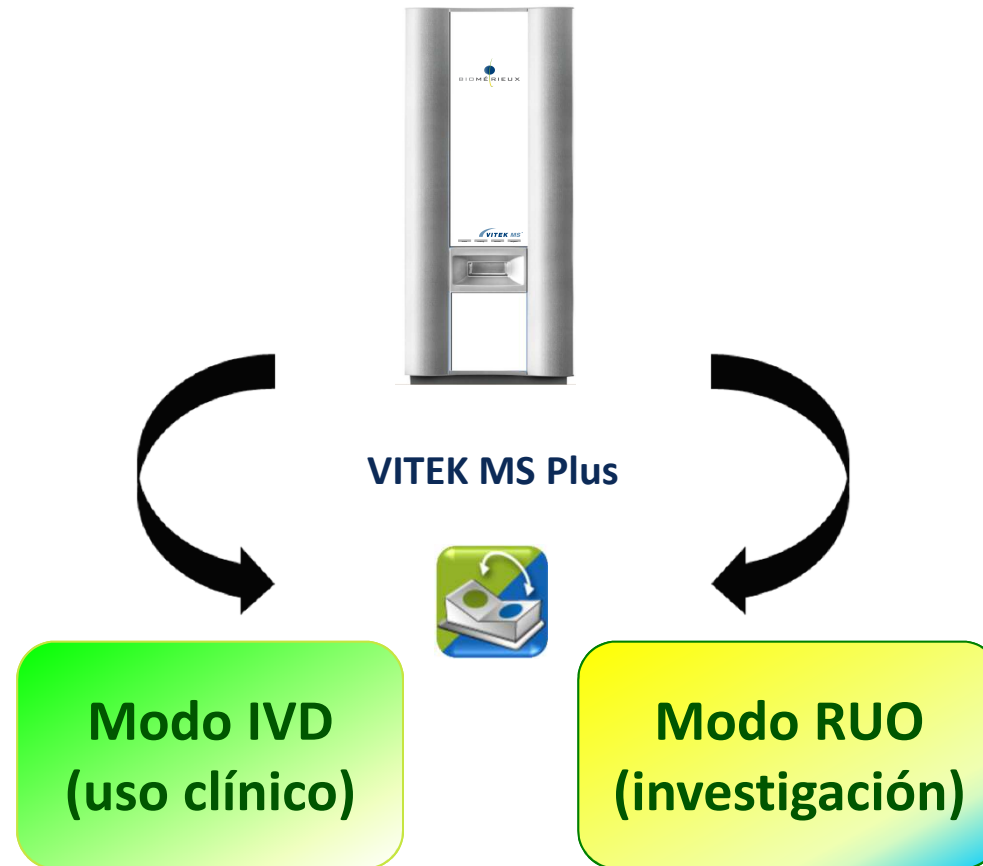


Acuciosa y reproducible



Fácil de usar

Un instrumento → dos posibilidades



Un instrumento → dos posibilidades

- IVD / CE marked/ FDA cleared
 - integración completa ID/AST/LIS
 - “VITEK MS IVD database” + algorithm **CERRADA** (actualizaciones periódicas)
 - Base de datos creada con 50 años de experiencia clínica
 - ➔ Responde a las necesidades de la RUTINA
 - ➔ Cubre las diferentes condiciones de cultivo usadas en los labs
 - ➔ Preparación de muestra y software fácil y amigable
 - ➔ Robusto
- > completamente validado para uso IVD

- Research Use Only
- SARAMIS database+ algorithm
 - ABIERTA**
 - SuperSpectra & ReferenceSpectra
- ID con base de datos personalizada
- Puede ser usada también en rutina
- Software abierto para analizar cualquier espectro y rango de masas
- Análisis de dendrogramas
- Comparación de espectro & masas
- A futuro posibilidad de detección de biomarcadores

Flujo de trabajo VITEK MS Plus

○ Modo IVD (rutina clínica)



Estación de Preparación



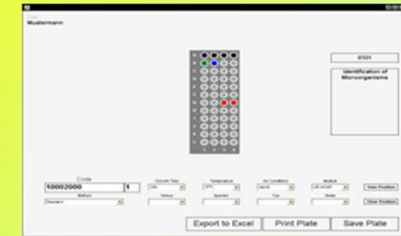
Estación de Adquisición



Revisión de Resultados



○ Modo RUO (investigación)



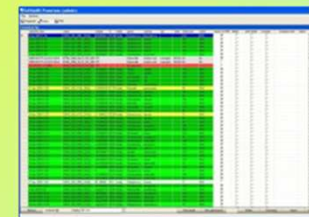
Target Manager



LaunchPad



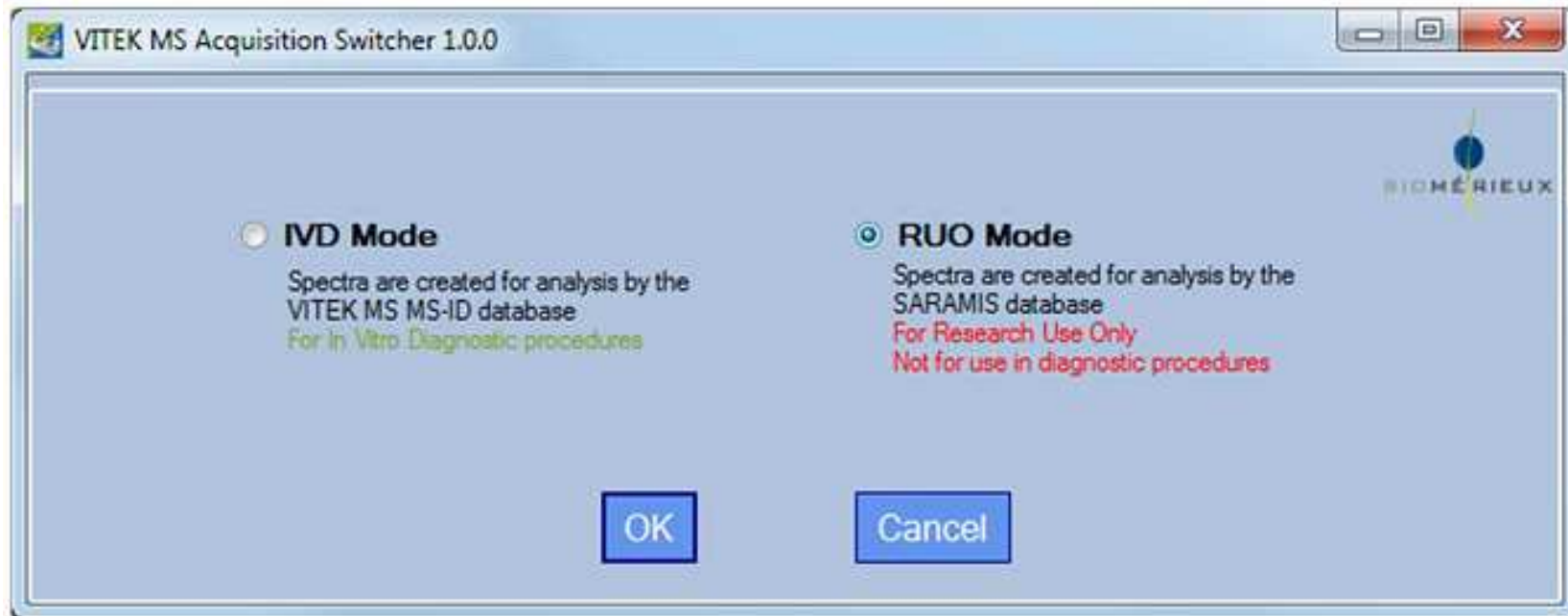
Revisión de Resultados
SARAMIS



Switcher:

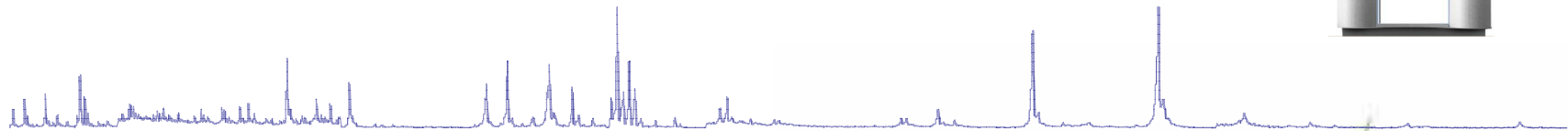


VITEK MS Acquisition Switcher





2. Presentación del sistema



Componentes

■ Instrumento



■ Estación de preparación



■ Estación de adquisición



■ MYLA®



Componentes

■ Instrumento:

Tubo largo:
• mayor precisión
• mayor resolución

→ futuras aplicaciones



Detector

Analizador másico

Sistema de ionización

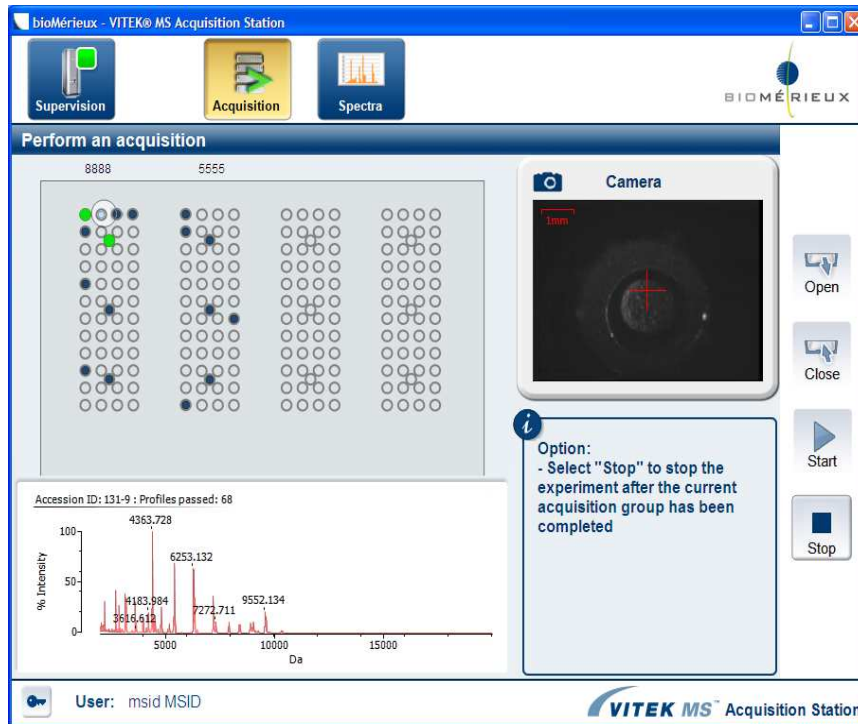
Sistema de entrada

■ Estación de preparación:



- Identificar los pocillos en los portaobjetos

Estación de adquisición:

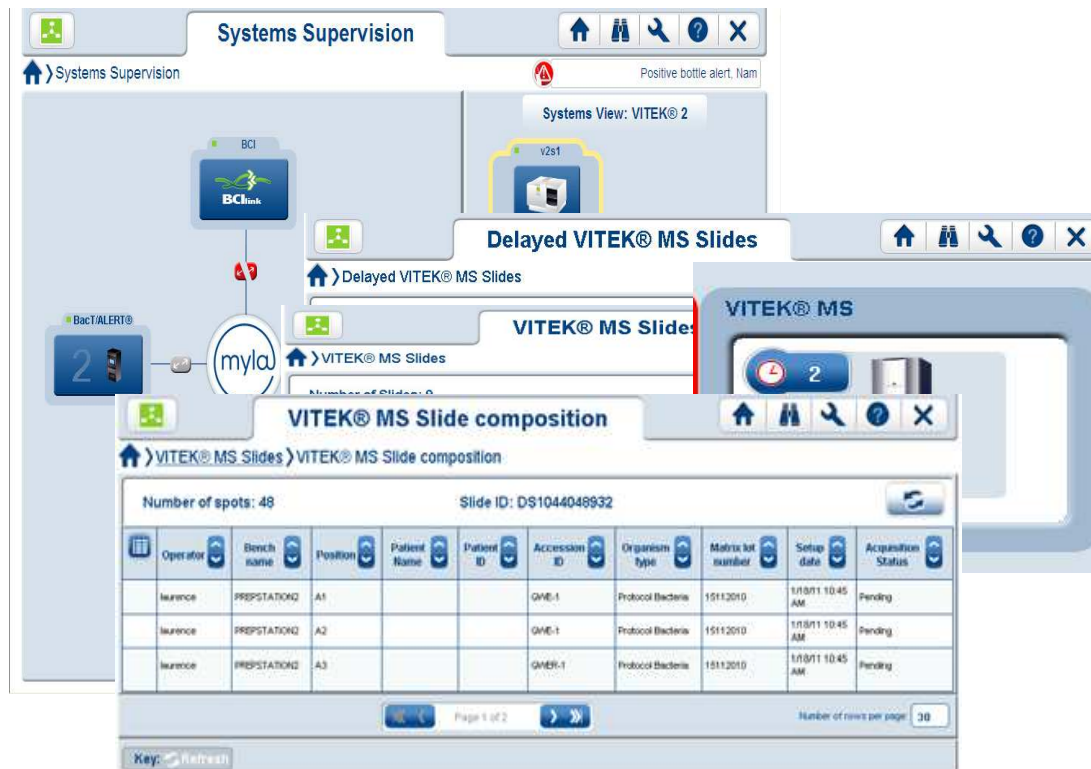


- Abrir y cerrar la puerta del equipo
- Adquirir y procesar los datos de medición de los spots
 - Datos brutos
 - Datos procesados
 - Lista de los «peaks», envío a Myla
- Acceder al estado del instrumento
 - Fallo: cambio de color del botón «Supervisión»



Componentes

■ Myla:

The screenshot displays the Myla software interface with several overlapping windows:

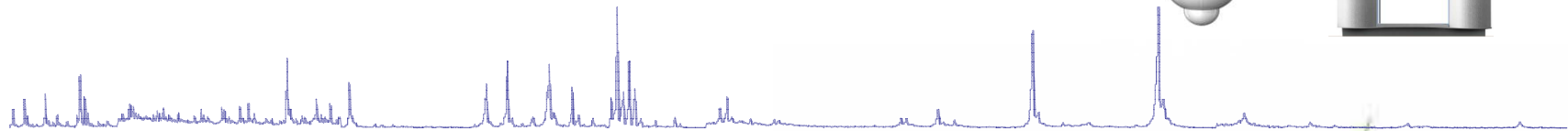
- Systems Supervision:** Shows a network diagram with components like BCI, BactALERT, and myla.
- Delayed VITEK® MS Slides:** A window showing a list of slides.
- VITEK® MS Slide composition:** A window displaying a table of slide data.

Operator	Bench name	Position	Patient Name	Patient ID	Accession ID	Organism type	Matrix lot number	Setup date	Acquisition Status
laurence	PREPSTATIONQ	A1			QME-1	Protocol Bacteria	15112010	1/18/11 10:45 AM	Pending
laurence	PREPSTATIONQ	A2			QME-1	Protocol Bacteria	15112010	1/18/11 10:45 AM	Pending
laurence	PREPSTATIONQ	A3			QMER-1	Protocol Bacteria	15112010	1/18/11 10:45 AM	Pending

- Gestionar el flujo de trabajo
- Ver el contenido de las slides
- Consultar y procesar los resultados de identificación (BDD)
- Supervisar el estado de la conexión



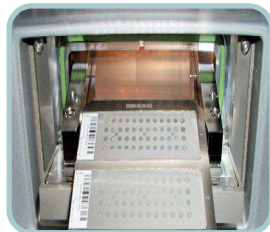
3. Flujo de Trabajo



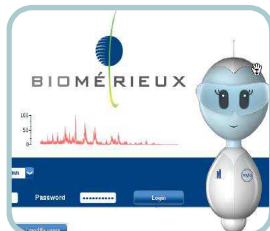
Flujo de trabajo



Preparación de la muestra



Carga de slides



**Revisión de resultados
en MYLA**



Preparación de la muestra

Se requiere:



VITEK MS Target Slides
(Ref.410893)



VITEK MS CHCA o 'matriz'
(Ref.411071)



VITEK MS FA
[Ác. Fórmico]
(Ref.411072)



Pipeta **1 µL** y Tips sin
filtro



Ansa plástica
1 µL



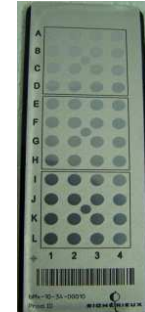
E.coli ATCC 8739 (24h)



Reactivos y consumibles para el procesamiento de muestras

■ VITEK® MS-DS: « Target slides », portaobjetos (Ref. 410893)

- Presentación: 1 kit = 8 cajitas de 4 portamuestras => 32 portamuestras
- Condiciones de conservación:
 - Dentro de los cartuchos de plástico o cartones
 - A 15-25° C
- No tocar la cara superior del portaobjetos



■ VITEK® MS-CHCA: matriz (Ref. 411071)

- Presentación: 5 × 0.5 ml
- Condiciones de conservación:
 - 2-8° C, protegida de la luz
 - Utilización 1 semana máximo después de la apertura del tubo
- Advertencia: se puede observar cristales amarillos → no afectan
- Cerrar el tubo para evitar la evaporación



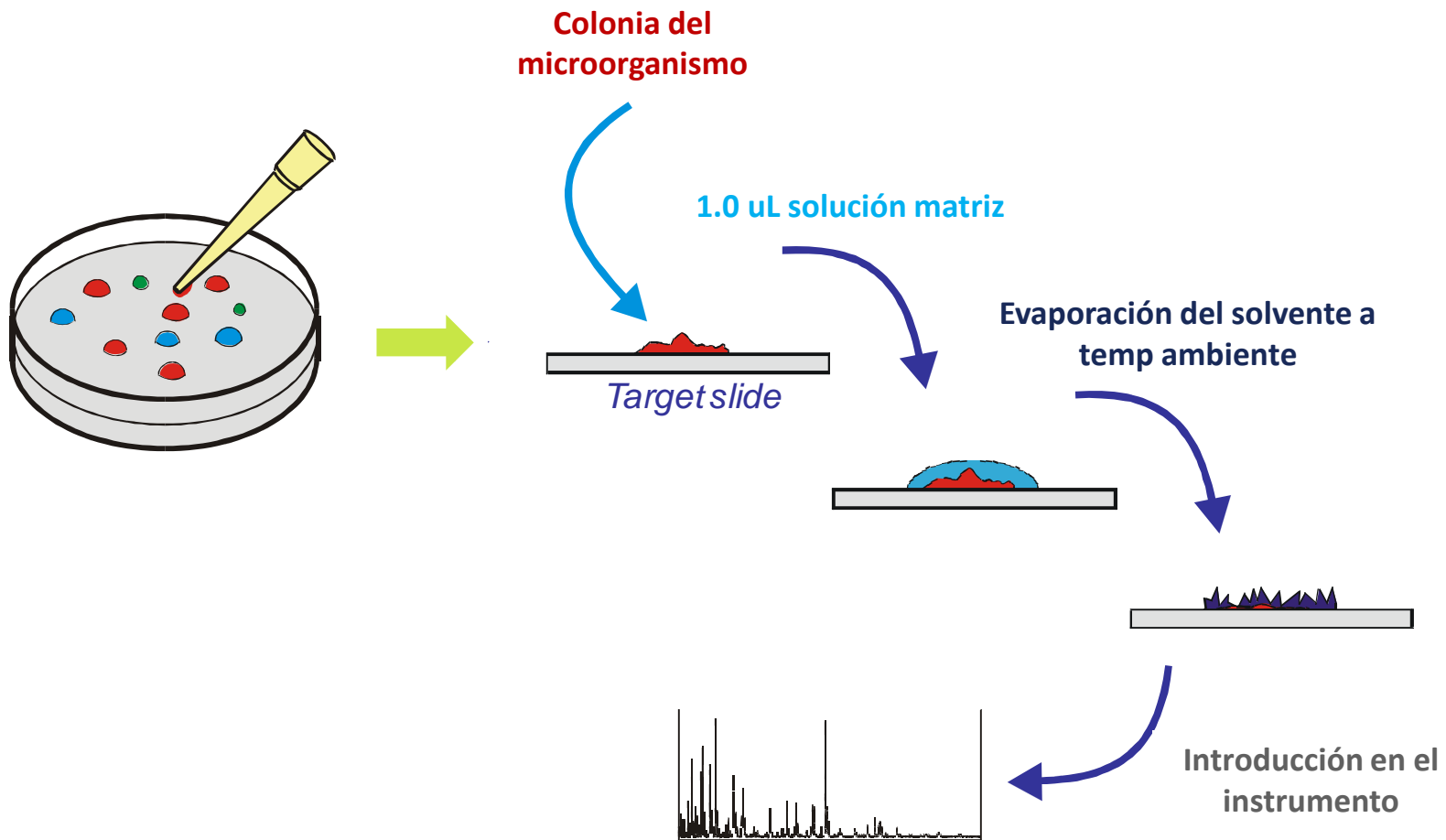
■ VITEK® MS-FA: ácido fórmico (Ref. 411072)

- Presentación: 5 × 0.5 ml
- Condiciones de conservación:
 - 2-8° C
 - Utilización 2 semanas máximo después de la apertura del tubo

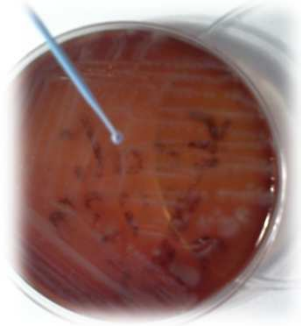


Preparación de la muestra

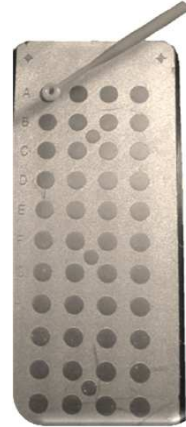
!!!Muy fácil...!!!



Preparación de la muestra



Tomar una colonia aislada de medio sólido



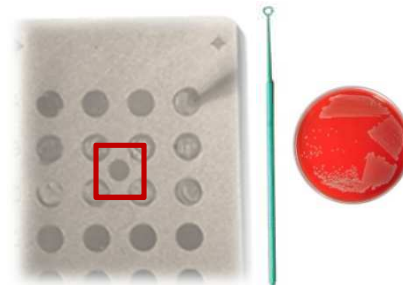
Depositar una pequeña cantidad de muestra en el spot del target slide



Agregar inmediatamente 1 μ L de matriz CHCA



Si se montan **levaduras**, agregar 0.5 μ L de FA antes de la matriz y dejar secar. Luego agregar CHCA.



Depositar la cepa CC E.coli (ATCC 8739) en el spot central



Esperar 3-4 min hasta que los spots esten completamente secos



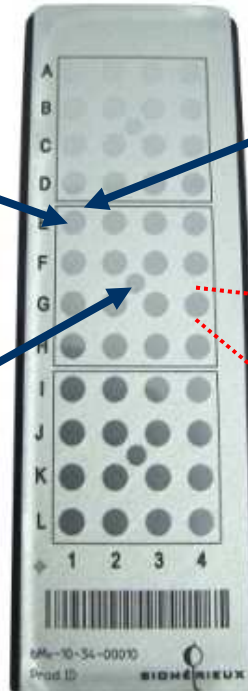
Preparación de la muestra - resumen



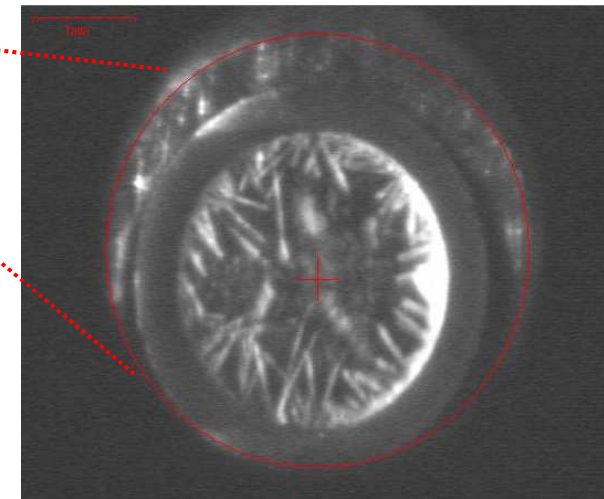
Tomar y transferir una única colonia de medio sólido

Tomar y transferir una única colonia de la cepa calibradora

Target slide con 48 posiciones



Adición de 1.0 μ l de matriz CHCA



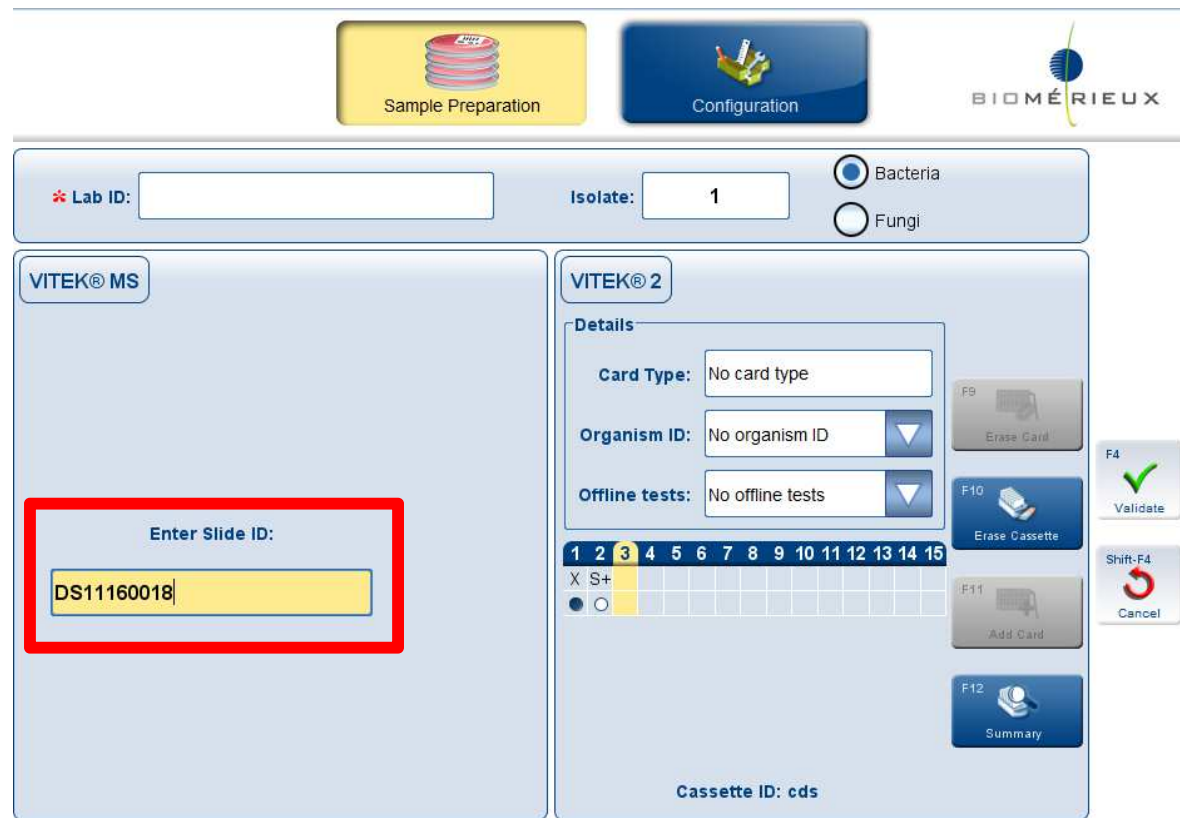
Preparación de la muestra



1. En **VITEK MS Prepstation** hacer doble click en el ícono:



2. Cuando el software se abre, escanear el **código de barras** del VITEK MS target slide



The screenshot shows the Vitek MS software interface. At the top, there are two main buttons: 'Sample Preparation' (highlighted in yellow) and 'Configuration'. Below these, there are input fields for 'Lab ID' and 'Isolate: 1', along with radio buttons for 'Bacteria' (selected) and 'Fungi'. The main interface is divided into two panels: 'VITEK® MS' and 'VITEK® 2'. In the 'VITEK® MS' panel, the 'Enter Slide ID:' field is highlighted with a red box and contains the text 'DS11160018'. The 'VITEK® 2' panel shows 'Details' for 'Card Type', 'Organism ID', and 'Offline tests', along with a grid for 'X S+' and various function buttons like 'Erase Card', 'Erase Cassette', 'Add Card', and 'Summary'. The 'Cassette ID: cds' is displayed at the bottom right.




Preparación de la muestra

3. Entrar el **LabID** de la muestra en este campo



5. Continuar entrando los Lab ID para todas las muestras del target slide

8. Una vez finalizado, click en **Enviar Slide**



Sample Preparation

4. Seleccionar Bacteria o Fungi, luego presionar **Enter**

* Lab ID: 12345

Isolate: 1

Bacteria
 Fungi

VITEK® MS

Sample: Empty

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
A	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
B	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
C	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
D	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
E	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
F	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
G	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
H	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
I	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
J	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
K	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
L	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

Slide ID: DS111600188

VITEK® 2

7. Cuando toda la información de mtra ha sido entrada, click **Validar** o **F4**

8. Al mismo tiempo se pueden montar las tarjetas AST y entrar la información en V2

F9 New Slide

F6 Erase Spot

F7 Erase Slide

Add Spot

Skip Spot

F8 Send Slide

F9 Erase Slide

Erase Cassette

F11 Add Card

F4 Validate

Shift-F4

Cancel



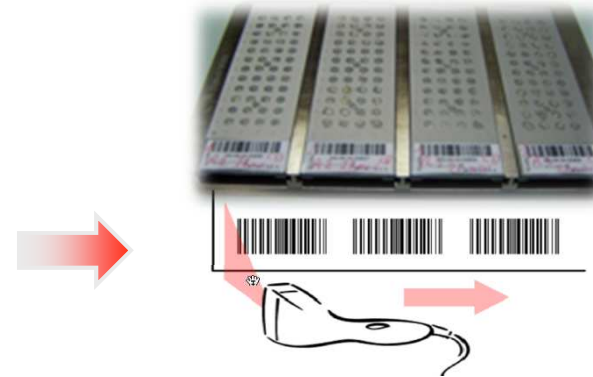
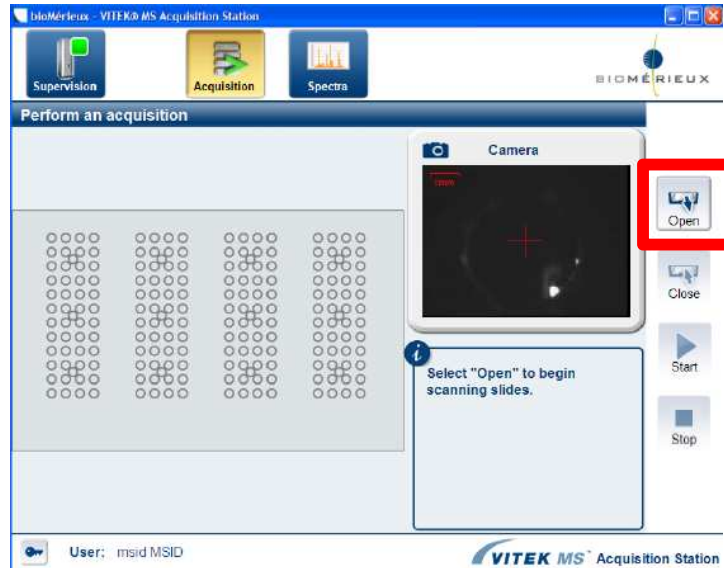
Video de preparación de muestra



Carga de slides



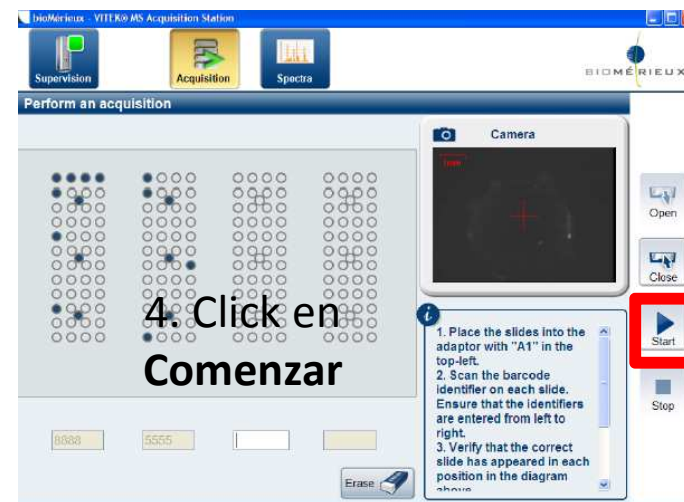
1. Entrar a la Estación de Adquisición y hacer click en **ABRIR**



2. Insertar los slides en la bandeja contenedora. Escanear los cód. de barras comenzando en la posición 1

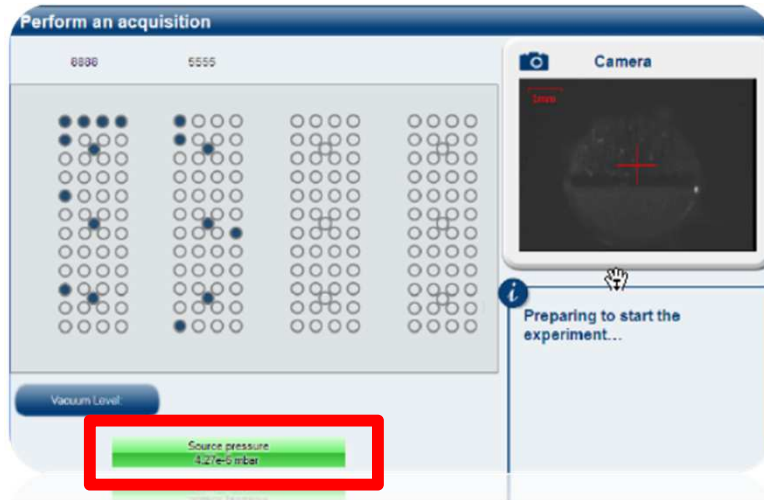


3. Cargar la bandeja dentro del instrumento

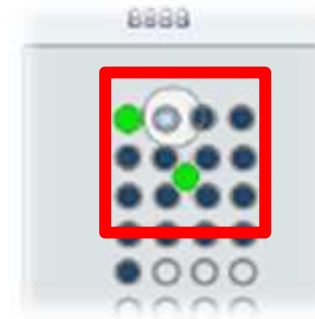


4. Click en **Comenzar**

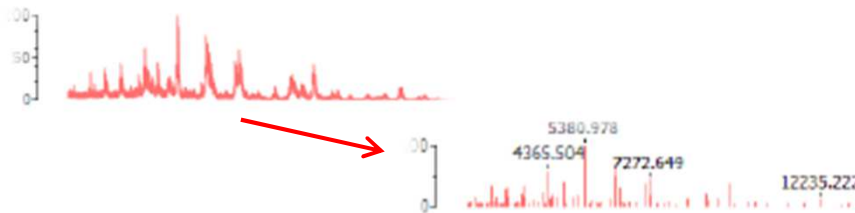
Carga de slides



Lleva entre 5 y 8 minutos alcanzar el vacío y luego comienza el proceso de adquisición.



El tiempo requerido para leer 1 spot es de **aprox. 45 seg.**
El grupo de adquisición completo debe ser leído luego que los resultados son enviados



Para cada spot el software obtiene 100 espectros que luego son promediados y el Pico es enviado a MYLA para la identificación



MYLA compara un Pico con aquellos en la Base de Datos e identifica a un organismo

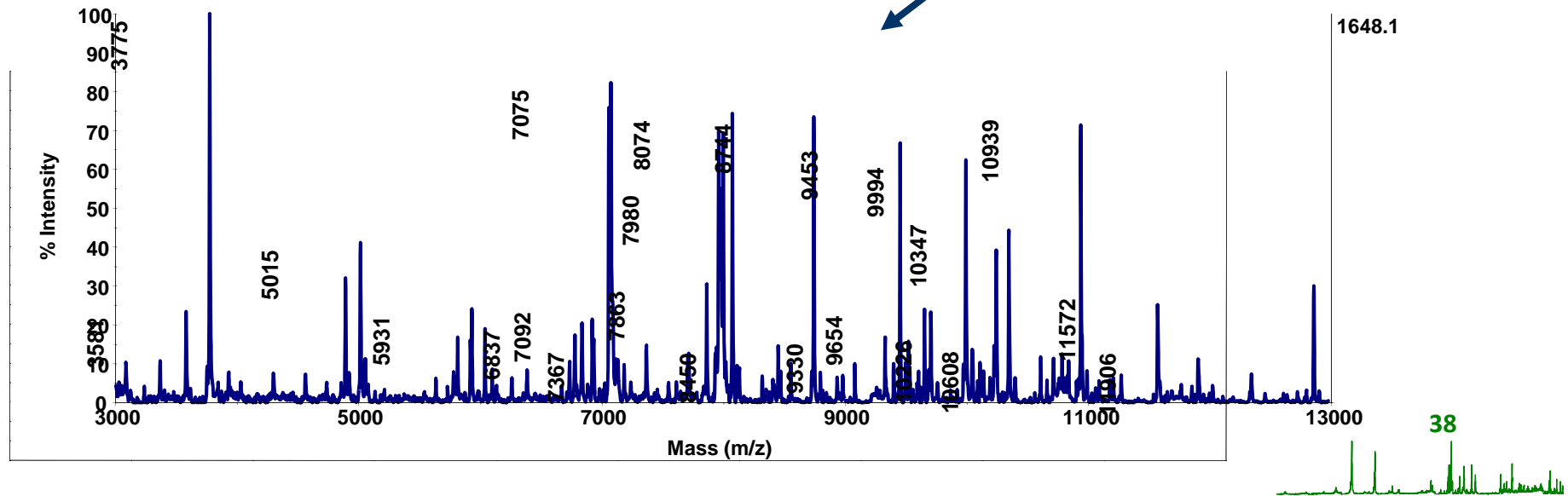


Carga de slides - resumen



Ionización de proteínas intactas y medida del peso molecular

Adquisición automatizada del espectro



Análisis Identificación



Comparison with the database

Computation with an algorithm

Identification of the microorganism



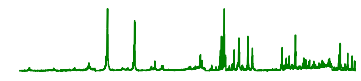
Revisión de resultados en MYLA



Muestra el n° de slides a cargar en el instrumento (total y demorados)



Muestra el n° de aislamientos a ser revisados (total y demorados)



Revisión de resultados en MYLA

Pestañas
A revisar /revisado



VITEK® MS Review

VITEK® MS Review

To be reviewed Reviewed

Search Criteria Operator: All Bench Name: All A revisar Setup Data

Number of Isolates: 417 List of results to review




Escherichia coli identified, possibility of Shigella spp. or Escherichia coli O157.

	Patient ID	Patient Name	Accession ID	Specimen Type	Organism Name	Conf. Value	Conf. Level	Review Status
<input type="checkbox"/>	P1003		20DS12h-1		Pseudomonas putida	99.9		To Send
<input type="checkbox"/>	P1003		18DS12h-1		Providencia stuartii	99.9		To Send
<input type="checkbox"/>	P1003		24DS12h-1		Staphylococcus cepis	99.9		To Send

LIS

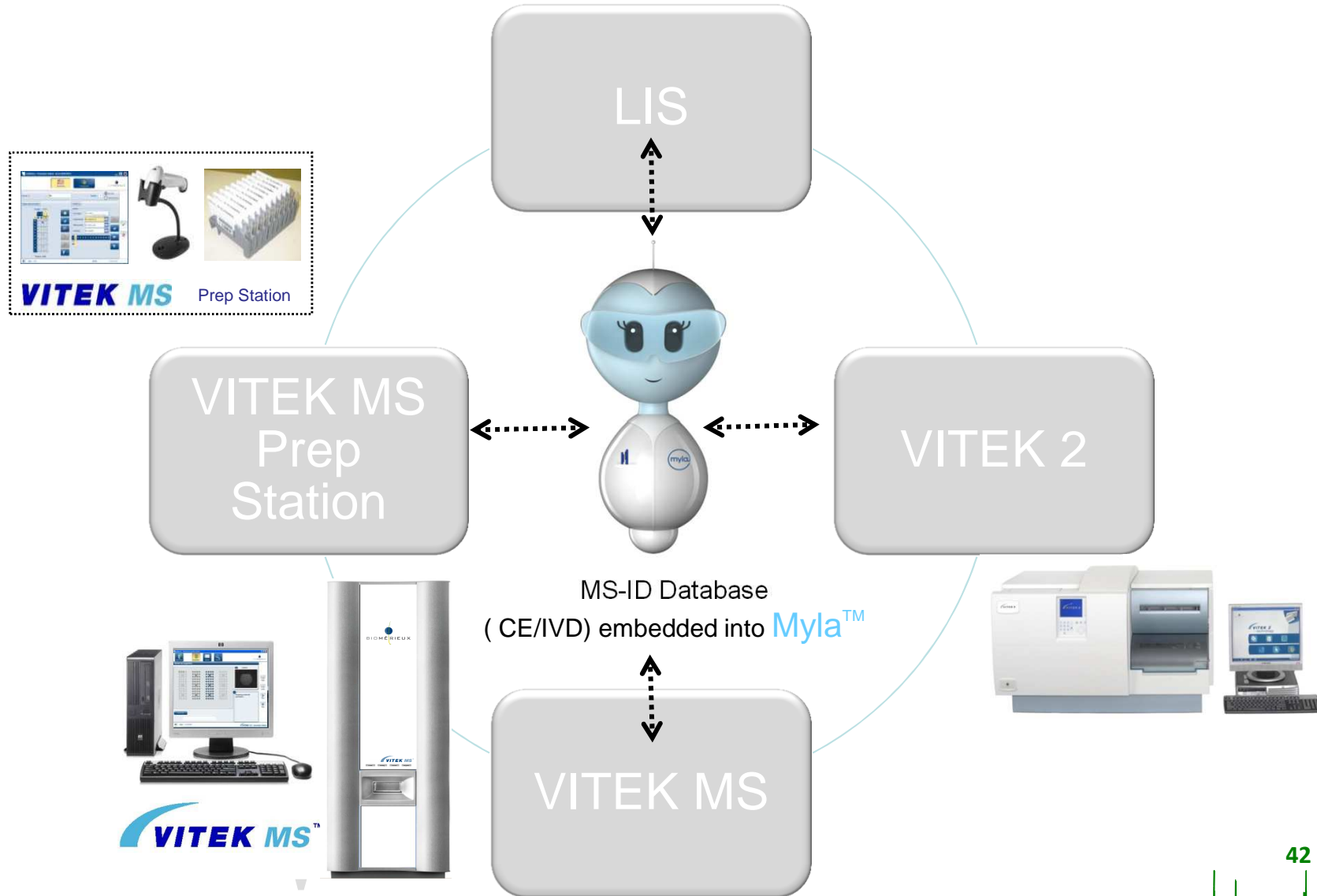
A revisar

Seleccionar aislamientos
para revisar o
para enviar al LIS

-  - Good identification.
-  - Low discrimination.
-  - No identification.

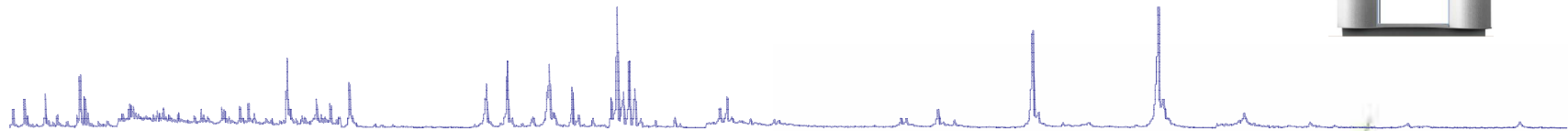


Uniendo **VITEK MS™** & **VITEK® 2** —technology





4. Calibración



Calibración

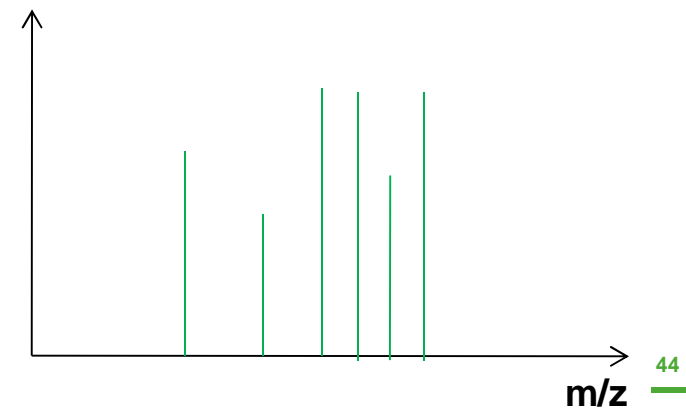
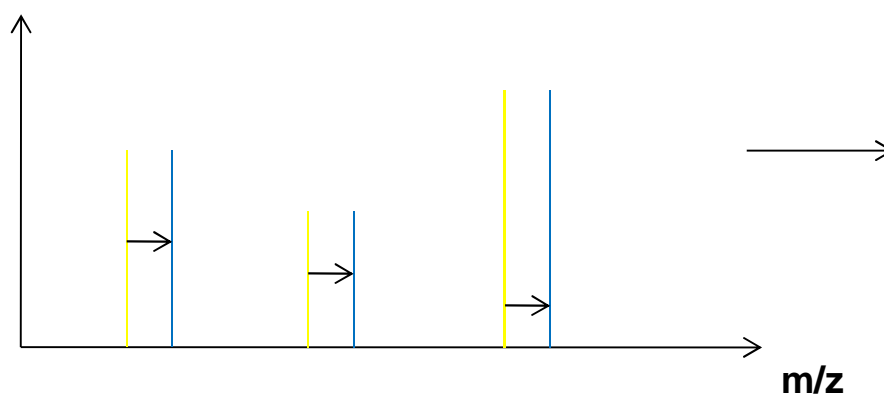
■ Objetivo

- Control del instrumento mediante la medición de un estándar exacto conocido, para detectar cualquier variación en el instrumento y corregir los errores
- Estándar exacto= cepa de calibración *E.coli* ATCC 8739
Cepa de colección con características muy bien conocidas



■ Método

- Medición de la cepa de calibración
- Comparación de las masas medidas con la lista de masas conocidas
- Ajuste de las masas



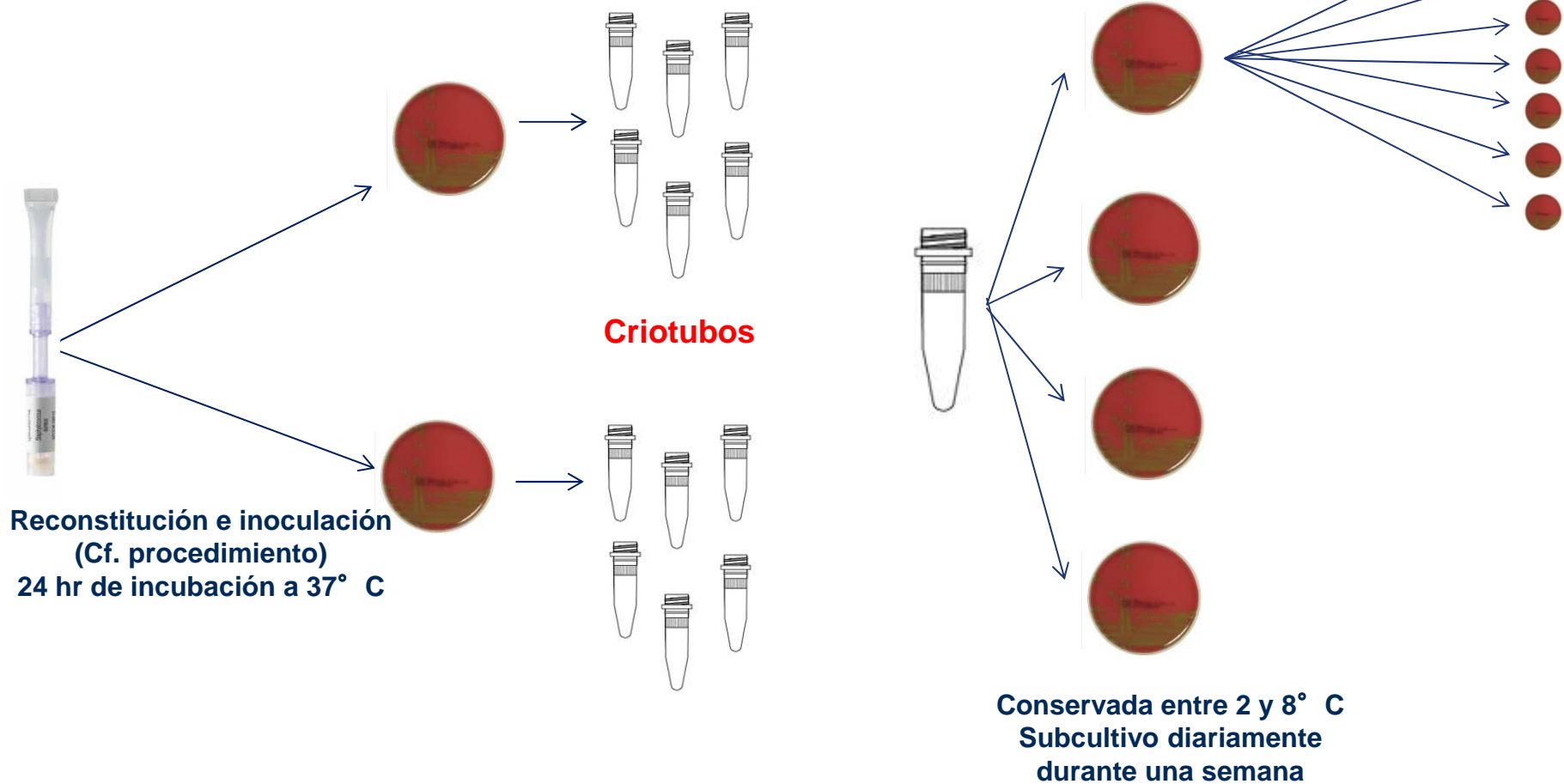
■ A cada adquisición de muestras:

Calibración + control de calidad interno

- Adquisición de los datos espectrales de *E.coli* ATCC 8739
→ Calibración
- Adquisición de los espectros de cada pocillo de muestra del grupo
- Segunda medición del pocillo de calibración, comparación de los resultados con la base de datos para verificar la correcta identificación de *E.coli* → Comprobación interna

Calibración

■ Protocolo de utilización y conservación de la cepa para la calibración diaria:



¿CONSULTAS?





BIOMÉRIEUX

