

IDENTIFIKASJON AV MUGGSOPP MED MALDI-TOF MS

Forfatter: Kjersti Wik Larssen (St.Olav)/ Ida Sletteberg (Molde)

FORSLAG TIL ANBEFALINGER (**RØD** SKRIFT = TIL DISKUSJON KONTROVERSIELLE)

ANBEFALING 1 NÅR SKAL MALDI-TOF MS BENYTTES TIL MUGGSOPPIDENTIFIKASJON?

- Muggsopp fra alvorlig/ komplisert infeksjon som krever systemisk antimykotika identifiseres med Maldi-TOF MS og morfologisk metode
- Riktig anvendt Maldi-TOF MS gir raskere og mer korrekt identifikasjon enn konvensjonelle fenotypiske metoder.
- **Alle laboratorier bør forsøke identifikasjon med Maldi-TOF MS før videresending til referanselab.**

ANBEFALING 2 VALG AV MEDIE FOR IDENTIFIKASJON

- Sabauraud glukose agar med kloramfenikol og gentamicin er stort sett godt egnet for identifikasjon.
- **ID-Fungiplates unngår forurensing med agar, og kan vurderes som et supplement i utvalgte tilfeller.**

ANBEFALING 3 VALG AV EKSTRAKSJONSMETODE OG PLATE

- Generelt: Følg leverandørs anbefalinger. Unngå å få med agar når det plukkes fra kolonier.
- Full ekstraksjon er vist å gi best spektra på tvers av ulike databaser, er dokumentert å drepe sopp og er anbefalt metode ved bruk av MSI og MicrobeNet databaser.
- **Extended direct transfer (eDT) med bruk av maursyre kan gi gode spektra, særlig ved bruk av ID-Fungal plates. Sparer arbeid og tid. Publiserte data for hvor godt ulike sopps drepes er mangelfull. Dersom ekstraksjon uten etanol benyttes, bør laboratoriet gjøre sin egen risikovurdering.**
- Engangsplate er å foretrekke for å unngå kontaminasjon.
- **Bruk alltid minst to spot. Flere studier anbefaler 3 eller 4 spot.**

ANBEFALING 4 VALG AV DATABASE, KRITERIE FOR IDENTIFIKASJON OG SUPPLERENDE TESTING

- Benytt både kommersiell og online offentlig database dersom mulig. Sammenfallende resultat mellom databaser styrker sikkerhet til identifikasjonen.
- Følg med på oppdateringer i databasen i lys av endringer i taksonomi
- MSI databasen anbefales. Den inneholder flest species, mange MSP per species og oppdateres jevnlig.
- Der Maldi-TOF MS ikke skiller godt mellom ulike species i henhold til leverandørs anbefalinger, besvares prøven på genus eller species kompleks nivå med mindre alternativ test gir avklaring.
- Stammer fra alvorlige infeksjoner sendes alltid til referanselab for identifikasjon/ konfirmasjon.

AVGRENSNING/ RELEVANTE PROBLEMSTILLINGER

Rask og pålitelig identifikasjon av muggsopp er viktig for å kunne starte med korrekt behandling tidlig (1, 2). Tradisjonelt har dette basert seg på fenotypiske og biokjemiske karakteristika, som er uendret og ikke vil omtales videre her, se [Microsoft Word - Strategirapport nr 27 \(2013\) Soppinfeksjoner.docx \(fhi.no\)](#). Dette bør opprettholdes, og er i noen sammenhenger tilstrekkelig alene (3). Ved alvorlige infeksjoner bør identifikasjon med Maldi-TOF MS alltid utføres, og vurderes samlet med fenotypiske metoder. Anvendelse av Maldi-TOF MS for identifikasjon av muggsopp har vært begrenset av mangelfulle databaser og inkonsistens i dyrkningsmetoder og ekstraksjon (1, 2, 4). De senere årene har bruken økt i takt med bedre databaser. Styrker

og begrensinger vil omtales, med fokus på systemer som brukes i Norge i dag (Bruker Daltonics MS og Vitek MS).

Identifikasjon med MALDI-TOF MS

Maldi-TOF MS er et raskt, rimelig og nyttig verktøy som kan benyttes før morfologisk identifikasjon er mulig, ved sterile hyfer og som kan skille mellom arter som er fenotypisk like. Implementering av Maldi-TOF MS gir økt grad av speciesidentifikasjon, raskere svar og færre feilidentifikasjoner enn tradisjonelle metoder (3, 5, 6). Rask og korrekt identifikasjon bidrar til riktig behandling, og er særlig viktig for såkalte *kryptiske arter** som ikke lar seg skille morfologisk fra andre arter i samme species complex, men som har ulik iboende følsomhet for antimykotika (1-3, 5, 7-10). *Kryptiske arter* forekommer hyppigere enn tidligere antatt, og utgjorde 17-48% av påviste *Aspergillus species* en multisenter studie (8).

Sammenlikning av studier er vanskelig fordi ulike instrumenter, programvare – versjon, bibliotek, dyrkningsmedier, ekstraksjonsmetoder og type target plates har vært benyttet. I tillegg påvirker ulike utvalg av species inkludert i studiene i stor grad resultatene (11). Én anbefalt, standardisert og felles protokoll for valg av medier, høsting fra koloni og ekstraksjon på tvers av instrument mangler (12). Studier har observert variasjon mellom lab i oppnådd identifikasjon på stammer undersøkt med samme metode og på samme type instrument, men på ulike laboratorier. Man antar at dette kan skyldes både instrumentforskjeller (Tid siden service, alder på instrument/laser, justeringer i programvare) og/eller forskjeller i teknisk ferdighet med hensyn til høsting fra kolonier/ekstraksjon og deponering på plate. Flere studier har vist mindre forskjeller mellom laboratorier ved bruk av VitekMS versus bruk av Bruker Daltonics MS (1-3, 13, 14).

Maldi-TOF MS bør benyttes i identifikasjon ved alle infeksjoner som krever systemisk antimykotika. Dersom laboratoriet mangler Maldi- TOF MS/ utstyret er ute av drift, kan ekstraksjon og deponering på target plate før videresending til samarbeidende laboratorium være en løsning (3, 9).

Valg av dyrkningsmedie og inkubasjonstid

Dyrkningsmedie (Sabouraud (SAB) med eller uten antibiotika, Potet dekstrose agar, Mycosel) er vist å kunne ha innvirkning på resultat (12, 15). Flere studier peker på ID-Fungi plates (IDFP, Conidia Coniphy, Quincieux, France) som egnet for identifikasjon (7, 12, 16). IDFP inneholder en membran som unngår kontaminasjon med agar, og man oppnår ofte renere spektra. Uselektiv SAB agar er vist å gi dårligere spektra enn selektiv SAB agar med kloramfenikol og gentamicin og IDFP (12). Siden IDFP koster betydelig mer, kan de forbeholdes til subkultur og situasjoner med vanskelig identifikasjon (7, 16, 17). IDFP har særlig en fordel dersom ikke full ekstraksjon benyttes.

Inkubasjonstid påvirker resultat av Maldi-TOF analyse. Generelt er det anbefalt å plukke fra unge kolonier, ofte 48-72 timers dyrkningstid, men også ned i 24 har vist å gi gode resultat (7, 15). Ved manglende identifikasjon eller lav score kan nytt forsøk fra kultur som har vært dyrket videre i 1-2 dager være nyttig (3, 5).

Valg av ekstraksjonsmetode og target plate

Ekstraksjonsmetodene bør følge leverandørs anbefalinger da volum, mengde og type matrix brukt, samt hvordan det er høstet fra koloniene varierer noe mellom de ulike leverandørene/databasene. Mens bruker anbefaler høsting av mycel (via flytende kultur eller frontmycel uten kontaminasjon med agar) er Vitek MS ekstraksjon basert på proteinekstraksjon fra conidier dyrket på faste medier. Full ekstraksjon fremholdes som den metoden som erfaringsmessig gir best spektra, og er per i dag anbefalt metodikk ved bruk av tilgjengelige offentlige online databaser (1, 2, 11, 14, 18, 19). Ekstraksjon for muggsopp kan deles i to hovedtyper, der litt ulike varianter av disse med blant annet knusing med beads er beskrevet.

1. Full ekstraksjon (FE) med etanol, maursyre (formic acid) og acetonitril.
2. Extended Direct Transfer (eDT) med maursyre (formic acid) som tilsettes før matrix.

Hvis ekstraksjonsprotokollen man benytter avviker fra den som er brukt for å bygge referansebiblioteket, kan ulike spektra oppnås, og man identifiserer kanskje ikke soppen eller får feil identifikasjon (1).

Biotrygghet med direkte metoder versus full ekstraksjon er lite omtalt i publisert litteratur (3, 18). Per nå fins kun begrenset dokumentasjon på at raskere ekstraksjonsprotokoller uten etanol dreper muggsopp (20). Inntil mer data fins anbefales det inntil videre å bruke FE, som er dokumentert at dreper sopp (18). Vitek har et statement dokument som sier at deres ekstraksjonsmetode, som inkluderer et etanoltrinn, inaktiverer muggsopp inklusive et utvalg BSL3 sopp. Bruker omtaler foreløpig ikke dette i veiledning til sine bibliotek, og anbefaler at alle laboratorier gjør sin egen risikovurdering ved bruk av eDT metodikk (personlig meddelelse på forespørsel til firma).

Antall spot som deponeres på platene er av betydning for identifikasjon. Det anbefales at minst to spot deponeres, gjerne 3-4 (3, 7, 21). For valg av plate anbefales å følge leverandørs anbefalinger for muggsoppidentifikasjon. Engangsplater (biotarget) er ofte å foretrekke for å minske kontaminasjonsfaren.

Valg av database

Både Bruker Filamentous Fungi (BFF) og Vitek MS kunnskapsbase (VKB) gir god diagnostikk på medisinsk vanlige muggsopp. Den største begrensningen ligger i antall species i databasene og antall MSP per species. I tillegg vil mangel av tilgjengelige spektra fra «*cryptic species*» kunne medføre feilidentifikasjon med konsekvenser for terapivalg (7, 10, 22). Av offentlig databaser er Mass Spectrometry Identification platform (MSI) er den første lett tilgjengelige online databasen for identifikasjon av sopp (14). Per i dag inneholder denne langt flere arter og masse spektra profiler (MSP) enn noen annen kommersiell eller offentlig database. MSI 2.0 er betydelig forbedret mht identifikasjon av *Aspergillus spp*, *Fusarium spp* og dermatofytter sammenliknet med MSI 1.0 (7, 17, 23). Den fungerer også godt også i prøver fra dyr og miljø, som kan være en fordel ved zoonoser eller i utbruddsoppløsning (24). MSI databasen er basert på godt karakteriserte isolater og oppdateres regelmessig (1, 2, 17, 24). MicrobeNet er et samarbeid mellom CDC, Bruker og enkelte andre referanselaboratoriers databaser. Per i dag ser det ikke ut til at den har noen fordel i antall muggsopparter versus MSI, og det har ikke lyktes å finne publikasjoner på bruk av denne databasen for muggsoppidentifikasjon. I tillegg fins NIH databasen (18), men bruk kompliseres av behov for material transfer agreements (24).

MSI bibliotek er bygd fra subkultur av referansestammer på SAB med gentamycin og kloramfenikol (14, 15). VKB er også bygd fra dyrkning på faste medier, mens BFF er basert på kultur i flytende medie (2, 3). Dyrkning i flytende medie er tungvint, og sjelden nødvendig hvis full ekstraksjon og MSI database benyttes. En sammenliknende studie fra 2019 fant at VKB identifiserte 52% av stammene til speciesnivå, BFF 17- 43% (avhengig av terskelverdi) og BFF + MSI 92% (25). MSI 2.0 har gjort betydelig arbeid i å legge til mange spektra for flere arter og i ulik vekstfase, og det er tvilsomt om kommersielle leverandører vil gjøre tilsvarende for å forbedre soppdatabasene sine (9), noe antall species og referansespektra/masse spektra profiler (MSP) i ulike versjoner av databasene kan tyde på (Tabell 1). Å ha spektra fra flere stammer, stammer i ulik vekstfase og dyrket ved ulike vekstbetingelser fra en species har vist seg å være viktig for god identifikasjon (15, 25), og er viktigere for sopp enn for bakterier når man lager bibliotek (3). Ofte oppnås dårligere identifikasjon dersom databasen bare bygger på ett isolat per species og en subkultur per isolat (15). Både MSI og VKB har som fordel at de har spekter fra flere stammer per species inne og høyere antall MSP per species enn BFF. Bruker Daltonics MS kommer i flere studier dårligere ut enn Vitek MS, men dette kan skyldes at svært få studier har benyttet dyrkning i flytende medium (18). En annen begrensende faktor kan være dårlig tilgang på godt karakteriserte stammer fra enkelte species på referanselaboratorier (15), men gevinsten i flere referansespektra fra samme stamme vil også her øke sannsynlighet for god identifikasjon. Ulike bibliotek for identifikasjon er utformet og validert for spesifikke instrument, som Bruker K Microflex eller bioMerieux VITEK MS. Det har vært sagt at genererte spektra ikke kan brukes på tvers av plattformer (3, 7), men nyere data viser at også Vitek MS spektra muligens kan benyttes i den Bruker genererte MSI2.0 databasen med gode resultat (Dutkiewicz M, ECCMID 2024; O0950).

Å kombinere ulike databaser, der MSI 2.0 inkorporeres i prøveflyten, vil gi best identifikasjonsrate av muggsopp siden databasene dels er komplementære. Feilidentifikasjoner er mulig med alle databaser/plattformer, og alle laboratorier må kjenne begrensninger med egne instrument og databaser, samt følge med på endringer i taksonomi og nomenklatur (3, 17, 24). Ved bruk av MSI databasen bør personvern/datasikkerhet ivaretas ved ikke å legge inn prøvenummer/pasient ID før generering eller overføring av spektra.

Kriterier for identifikasjon

Databasleverandøren sin anbefaling bør i hovedsak følges. Imidlertid har studier vist at å senke score til 1.7 for Brukers database kan gi god ID uten at det øker antall feilidentifikasjoner (1, 3, 22). For MSI anbefales å følge anbefalingene fra leverandør, som benytter ulike score verdier og differanse i score mellom første og neste isolat for å kunne besvare på species eller species complex nivå (7). For Vitek MS anbefales også å følge leverandørs anbefalinger, med score > 99.0% som anbefalt godkjenning til speciesnivå med høy konfidens og > 60% for identifikasjon med lav konfidens (19).

Ved manglende identifikasjon kan videre dyrkning og gjentatt forsøk, evt subkultur på ID fungal plates bidra til å gi bedre spektra (7, 16).

Kontrollrutiner før besvaring

Resultat fra morfologi, massespektrometri og eventuelle supplerende tester gjennomgås før endelig besvaring til species eller genus nivå. Usikkerhet bør formidles til kliniker, særlig i tilfeller der det kan ha konsekvenser for valg av antimykotisk terapi (arter med iboende resistens mot ett eller flere antimykotika). Invasive isolat bør sendes referanselab for konfirmasjon. Funn må alltid vurderes i lys av klinikk og eventuelle disponerende forhold ([Microsoft Word - Strategirapport nr 27 \(2013\) Soppinfeksjoner.docx \(fhi.no\)](#)). Ved tvil om klinisk relevans bør en kommentar følge svaret eller formidles muntlig til rekvirent.

Besvaring

Molekylære metoder har medført store endringer for sopp taksonomi, begrunnet i jevnlig rapporter (26). Sopp man tidligere antok tilhørte samme species viser seg å være ulike species, og sopp som har vært klassifisert i samme genus tilhører nå ulike genus basert på molekylær fylogeni. Fortsatt gjenstår avklaringer for flere arter av medisinsk betydning. Justeringer i årene som kommer må påregnes.

Dobbel nomenklatur, der anamorf og teleomorf av samme sopp har hatt ulike navn, har vært forkastet siden 2011 (one fungus one name) (26), men gamle navn er godt innarbeidet og/eller benyttes fortsatt i lærebøker, retningslinjer og databaser. Det samme isolatet kan derfor bli identifisert med ulikt navn avhengig av metode/database, noe som kompliserer laboratorienes svarrutiner. Oppdatert sopptaksonomi fins på [Mycobank](#) og på [Index Fungorum - Search Page](#), men disse gir ikke anbefalinger om besvaring eller nytten av endringene. Det jobbes med en løsning for ett nettsted med anbefalte navn for medisinsk viktige sopp og hvordan disse skal besvares. En internasjonal konsensus, der mye fortsatt er valgfritt, kom i 2023 og laboratoriene bør følge denne og fremtidige oppdateringer (27).

Eksempler:

- *Magnusiomyces capitatus* (tidligere kjent som *Geotrichum capitatum*)
- *Lomentospora prolificans* (tidligere kjent som *Scedosporium prolificans*)
- *Nanizzia gypsea* (tidligere kjent som *Microsporum gypseum*)

Anbefalte ringtester og validering

VKB er FDA og IVD godkjent. BFF har inntil nylig kun vært RUO, men de har nå lansert et IVD BFF bibliotek som anbefaler en variant av eDT der frontmycel høstes fra IDFP (MyT metoden). Selve databasen er basert på RUO databasen med spektra generert fra flytende kultur (personlig meddelelse). Per i dag fins ingen publikasjoner med gevinster av denne databasen /metoden opp mot andre. Begrensninger i antall arter og antall MSP per species vil derfor være som tidligere.

En validering av det enorme antall arter i offentlige RUO databaser er ikke realistisk å få til, men alle laboratorier bør gjøre en egen begrenset validering på de vanligst forekommende medisinske muggsopp opp mot den/ de databasene de benytter. Dersom mulig bør valideringen også inkludere *kryptiske arter** av medisinsk betydning, som *A.lentulus*, *A.thermomutatus*, *A.calidoustus*, *A.pseudodeflectus* og *A.tubingensis*. MSI databasen krever at nye brukere logger inn med en brukerprofil, og før bruk vil et sett spektra produsert av brukeren vurderes av MSI for å sikre samsvar med anbefalt ekstraksjon. NEQAS har EQA for mycology, med god mulighet for å trene på dyrkning og identifikasjon av muggsopp og dermatofytter.

PROBLEMOMRÅDER

- Bør alle laboratorier forsøke identifikasjon av muggsopp med Maldi –TOF MS på klinisk viktige prøver i påvente av svar fra referanselab, også de med begrenset erfaring i muggsoppdiagnostikk? Variasjon i teknisk ferdighet/trening versus gevinst av hurtigere svar.
- Bruk av eDT er tidsbesparende og kan gi gode spektra, særlig ved bruk av IDFP. Det fins lite publisert dokumentasjon på biotrygghet i lab ved bruk av eDT.
- Begrensninger i ulike databaser. Vær klar over hvilke arter som ikke sikkert kan skilles fra andre arter med egen metode/ bibliotekversjon, og kommuniser et svar i tråd med dette. Morfologisk identifikasjon kan i enkelte tilfeller være avklarende, men ofte ikke. For alvorlige infeksjoner bør kommersielle bibliotek suppleres med online bibliotek (MSI fortrinnsvis) for bedre identifikasjon av uvanlige arter og kryptiske arter da dette kan ha behandlingsmessig konsekvens.
- Databasen er ikke nødvendigvis oppdatert i henhold til taksonomiske endringer og/eller nomenklatur (sjekk før besvaring). Kan medføre «feilidentifikasjon».
- Det er ingen internasjonal konsensus om valg av dyrknings-medium og ekstraksjon før identifikasjon.

**Kryptiske arter:* Art som tilhører samme seksjon eller species complex. Lar seg ikke skille fra hverandre med morfologiske metoder (makroskopisk og mikroskopisk), men er ulike ved hjelp av sekvensering av ITS og/eller supplerende gener (betatubulin, calmodulin). Iboende resistens kan være ulik innad i et species complex, og korrekt identifikasjon av kryptiske arter er derfor av klinisk betydning. Eksempelvis er både *Aspergillus lentulus* og *Aspergillus thermomutatus* som begge tilhører seksjon *Fumigati* (= *A.fumigatus species complex*) resistente mot Voriconazol, til forskjell fra villtype *A.fumigatus*.

REFERANSER

1. Wilkendorf LS, Bowles E, Buil JB, van der Lee HAL, Posteraro B, Sanguinetti M, et al. Update on Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry Identification of Filamentous Fungi. J Clin Microbiol. 2020;58(12).
2. Lau AF. Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight for Fungal Identification. Clin Lab Med. 2021;41(2):267-83.
3. Stein M, Tran V, Nichol KA, Lagace-Wiens P, Pieroni P, Adam HJ, et al. Evaluation of three MALDI-TOF mass spectrometry libraries for the identification of filamentous fungi in three clinical microbiology laboratories in Manitoba, Canada. Mycoses. 2018;61(10):743-53.
4. Patel R. A Moldy Application of MALDI: MALDI-ToF Mass Spectrometry for Fungal Identification. J Fungi (Basel). 2019;5(1).
5. Gautier M, Ranque S, Normand AC, Becker P, Packeu A, Cassagne C, et al. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry: revolutionizing clinical laboratory diagnosis of mould infections. Clin Microbiol Infect. 2014;20(12):1366-71.
6. Ranque S, Normand AC, Cassagne C, Murat JB, Bourgeois N, Dalle F, et al. MALDI-TOF mass spectrometry identification of filamentous fungi in the clinical laboratory. Mycoses. 2014;57(3):135-40.
7. Barker KR, Kus JV, Normand AC, Gharabaghi F, McTaggart L, Rotstein C, et al. A Practical Workflow for the Identification of Aspergillus, Fusarium, Mucorales by MALDI-TOF MS: Database, Medium, and Incubation Optimization. J Clin Microbiol. 2022;60(12):e0103222.

8. Imbert S, Normand AC, Gabriel F, Cassaing S, Bonnal C, Costa D, et al. Multi-centric evaluation of the online MSI platform for the identification of cryptic and rare species of *Aspergillus* by MALDI-TOF. *Med Mycol*. 2019;57(8):962-8.
9. Gautier M, Normand AC, Ranque S. Previously unknown species of *Aspergillus*. *Clin Microbiol Infect*. 2016;22(8):662-9.
10. Imbert S, Cassaing S, Bonnal C, Normand AC, Gabriel F, Costa D, et al. Invasive aspergillosis due to *Aspergillus* cryptic species: A prospective multicentre study. *Mycoses*. 2021;64(11):1346-53.
11. Choi Y, Kim D, Choe KW, Lee H, Kim JS, Ahn JY, et al. Performance Evaluation of Bruker Biotyper, ASTA MicroIDSys, and VITEK-MS and Three Extraction Methods for Filamentous Fungal Identification in Clinical Laboratories. *J Clin Microbiol*. 2022;60(11):e0081222.
12. Jeraldine VM, Wim L, Ellen VE. A comparative study for optimization of MALDI-TOF MS identification of filamentous fungi. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* : official publication of the European Society of Clinical Microbiology. 2023;42(10):1153-61.
13. Lau AF, Walchak RC, Miller HB, Slechta ES, Kamboj K, Riebe K, et al. Multicenter Study Demonstrates Standardization Requirements for Mold Identification by MALDI-TOF MS. *Front Microbiol*. 2019;10:2098.
14. Normand AC, Becker P, Gabriel F, Cassagne C, Accoceberry I, Gari-Toussaint M, et al. Validation of a New Web Application for Identification of Fungi by Use of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry. *J Clin Microbiol*. 2017;55(9):2661-70.
15. Normand AC, Cassagne C, Ranque S, L'Ollivier C, Fourquet P, Roesems S, et al. Assessment of various parameters to improve MALDI-TOF MS reference spectra libraries constructed for the routine identification of filamentous fungi. *BMC Microbiol*. 2013;13:76.
16. Robert MG, Romero C, Dard C, Garnaud C, Cognet O, Girard T, et al. Evaluation of ID Fungi Plates Medium for Identification of Molds by MALDI Biotyper. *J Clin Microbiol*. 2020;58(5).
17. Robert MG, Cornet M, Hennebique A, Rasamoelina T, Caspar Y, Ponderand L, et al. MALDI-TOF MS in a Medical Mycology Laboratory: On Stage and Backstage. *Microorganisms*. 2021;9(6).
18. Lau AF, Drake SK, Calhoun LB, Henderson CM, Zelazny AM. Development of a clinically comprehensive database and a simple procedure for identification of molds from solid media by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol*. 2013;51(3):828-34.
19. Sun Y, Guo J, Chen R, Hu L, Xia Q, Wu W, et al. Multicenter evaluation of three different MALDI-TOF MS systems for identification of clinically relevant filamentous fungi. *Med Mycol*. 2021;59(1):81-6.
20. Luethy PM, Zelazny AM. Rapid one-step extraction method for the identification of molds using MALDI-TOF MS. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2018;91(2):130-5.
21. Cassagne C, Ranque S, Normand AC, Fourquet P, Thiebault S, Planard C, et al. Mould routine identification in the clinical laboratory by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *PLoS One*. 2011;6(12):e28425.
22. Normand AC, Cassagne C, Gautier M, Becker P, Ranque S, Hendrickx M, et al. Decision criteria for MALDI-TOF MS-based identification of filamentous fungi using commercial and in-house reference databases. *BMC Microbiol*. 2017;17(1):25.
23. Normand AC, Blaize M, Imbert S, Packeu A, Becker P, Fekkar A, et al. Identification of Molds with Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry: Performance of the Newly Developed MSI-2 Application in Comparison with the Bruker Filamentous Fungi Database and MSI-1. *J Clin Microbiol*. 2021;59(10):e0129921.
24. Trivitt GE, Lau AF. Performance of the MSI-2 Database for Fungal Identification by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry from Cleanroom Environments. *J Clin Microbiol*. 2023;61(3):e0135322.
25. Dupont D, Normand AC, Persat F, Hendrickx M, Piarroux R, Wallon M. Comparison of matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) systems for the identification of moulds in the routine microbiology laboratory. *Clin Microbiol Infect*. 2019;25(7):892-7.
26. Borman AM, Johnson EM. Changes in fungal taxonomy: mycological rationale and clinical implications. *Clin Microbiol Rev*. 2023;36(4):e0009922.
27. de Hoog S, Walsh TJ, Ahmed SA, Alastruey-Izquierdo A, Alexander BD, Arendrup MC, et al. A conceptual framework for nomenclatural stability and validity of medically important fungi: a proposed global consensus guideline for fungal name changes supported by ABP, ASM, CLSI, ECMM, ESCMID-EFISG, EUCAST-AFST, FDLC, IDSA, ISHAM, MMSA, and MSGERC. *J Clin Microbiol*. 2023;61(11):e0087323.