

I Revues générales

Que change la spectrométrie de masse dans le diagnostic bactériologique ?

RÉSUMÉ : L'identification bactérienne par spectrométrie de masse de type MALDI-TOF MS (*Matrix-Assisted Laser Desorption Ionisation Time-Of-Flight Mass Spectrometry*) repose sur la comparaison de l'empreinte spectrale propre à l'espèce étudiée et des empreintes contenues dans une base de données. Celle-ci est possible à partir d'une colonie isolée de milieux de culture solides, mais aussi directement à partir de bouillons ou d'échantillons liquides, principalement les hémocultures et les urines. Cette méthode s'est aujourd'hui imposée dans les laboratoires de microbiologie pour identifier les bactéries isolées d'infections, aux dépens des anciennes méthodes biochimiques. De façon moins systématique, le MALDI-TOF MS peut également être utilisé pour déterminer le profil de sensibilité de la bactérie vis-à-vis de certains antibiotiques ou à visée épidémiologique. Sa facilité d'utilisation, sa rapidité, sa précision d'identification ainsi que son coût faible par échantillon font le succès de cette technique. Cependant, la juste identification est directement liée aux bases de données utilisées et certaines espèces, trop proches, ne sont pas facilement différenciables par MALDI-TOF MS.



**J. BIGOT¹, I. KAIBI², M. LESCAT^{2,3},
E. CARBONNELLE^{1,2,3}, V. WALEWSKI^{1,3}**

¹Service de Microbiologie clinique, Hôpitaux Universitaires Paris Seine-Saint-Denis, Site Avicenne, PARIS.

²Service de Microbiologie clinique, Hôpitaux Universitaires Paris Seine-Saint-Denis, site Jean Verdier, PARIS.

³UMR 1137, INSERM, Universités Paris Diderot, Paris Nord, IAME, Sorbonne Paris Cité, PARIS.

Une des missions essentielles du laboratoire de microbiologie est la mise en évidence et l'identification de l'espèce bactérienne permettant l'optimisation de la prise en charge thérapeutique du patient par le clinicien, en adaptant le traitement antibiotique au profil de la bactérie. La mise en route précoce et efficace d'une antibiothérapie permet en effet de réduire la mortalité, en particulier chez les patients fragiles comme les enfants [1].

Classiquement, l'identification bactérienne repose sur l'aspect macroscopique des colonies en culture, l'examen microscopique (forme, coloration tinctoriale de Gram, mobilité), l'étude phénotypique et métabolique, notamment par galerie d'identification biochimique (galeries API). Ces dernières sont réalisables à partir d'une colonie et interprétables après 18-24 heures d'incubation. Néanmoins, il est parfois

nécessaire de recourir à des tests biochimiques complémentaires. Lorsque les analyses précédentes n'ont abouti à aucun résultat ou que les résultats sont discordants, l'analyse génétique par biologie moléculaire peut être nécessaire pour identifier l'espèce et, dans ce cas, deux stratégies existent. D'abord la PCR universelle, qui cible le gène de l'ARN16S (composant du ribosome bactérien) et nécessite ensuite une étape de séquençage, ou la PCR spécifique dirigée sur des gènes cibles caractéristiques de certaines espèces bactériennes. Cependant, le nombre important de manipulations, le coût ainsi que le délai entre le prélèvement et l'identification microbiologique avec les techniques d'identification classiques ont incité les laboratoires à développer de nouvelles stratégies plus rapides. D'abord réservée à la pharmacotoxicologie et la biochimie pour l'analyse de protéines complexes,

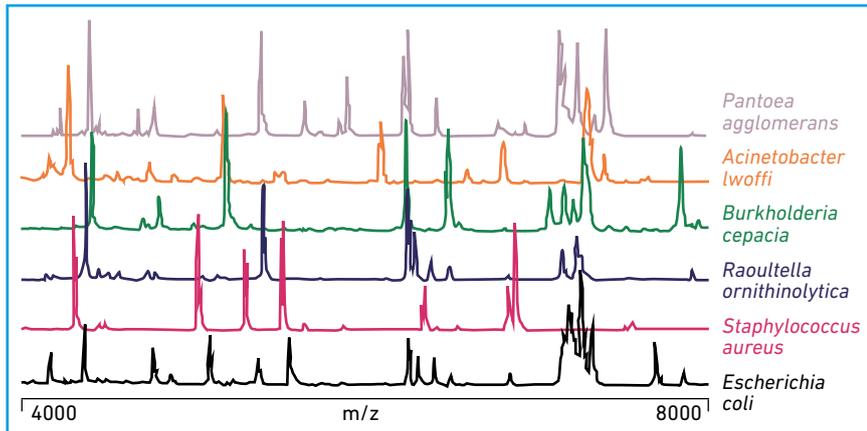


Fig. 1 : Exemple de quelques spectres de bactéries. (Source : Anagnostec GmbH).



Fig. 2 : Principe du MALDI-TOF MS.

la spectrométrie de masse, dont le MALDI-TOF MS, a fait son entrée dans les laboratoires de microbiologie dans les années 2010 pour l'identification d'espèces bactériennes, mais aussi fongiques. Le MALDI-TOF MS se démocratise peu à peu et remplace maintenant les techniques traditionnelles.

■ Principe

L'empreinte spectrale (ou spectre) d'un micro-organisme donné est spécifique de l'espèce. Le principe repose sur la comparaison du spectre du germe à identifier à ceux contenus dans une banque de données. Ces spectres contiennent des pics constants et spécifiques de chaque espèce, qui serviront pour l'identification (*fig. 1*), ainsi que des pics inconstants qui peuvent être des marqueurs de clonalité.

Cette identification peut être réalisée soit à partir d'une colonie, soit directement à partir de milieux liquides (bouillon de culture, urines, etc.). Le principe est illustré dans la *figure 2*.

■ Performance

Dès les premières études, les résultats obtenus sur colonies ont montré la robustesse ainsi que la grande performance de cette technique pour l'identification bactérienne et fongique. Seng *et al.* ont été les premiers à utiliser le MALDI-TOF MS en routine [2]. Les résultats des principales études sont résumés dans le *tableau I*.

De plus, le MALDI-TOF MS est aussi performant pour l'identification des bactéries plus difficiles à isoler par les méthodes traditionnelles de laboratoires, comme celles du groupe HACEK (*Haemophilus, Aggregatibacter, Cardiobacterium, Eikenella et Kingella*) particulièrement rencontrées en pédiatrie (endocardites, méningites, pneumonies, etc.) [3].

Revue générale

| Auteurs | Échantillons | Pourcentages d'identification | | Principales difficultés | Commentaires |
|----------------------------------|--|-------------------------------|-----------|---|---|
| Seng <i>et al.</i> 2009 [2] | Tout prélèvement de routine (n = 1660) | Espèce | 83.8% | <i>Propionibacterium acnes</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> <i>Shigella sp.</i> | Le MALDI-TOF MS est utilisé en première ligne pour l'identification. Appareil: Autoflex II (Bruker Daltonics) |
| | | Genre | 95% | | |
| Bizzini <i>et al.</i> 2010 [19] | Tout prélèvement de routine (n = 1371) | Espèce | 93.2% | <i>Shigella sp.</i> <i>Streptococcus sp.</i> | Une étape d'extraction permet d'augmenter le % de résultats valides de 22,9%. Erreurs de taxonomie essentiellement. Appareil: Microflex LT (Bruker Daltonics) |
| | | Genre | 98.5% | | |
| Gravet <i>et al.</i> 2010 [20] | Tout prélèvement de routine (n = 10 000) | Espèce | 98,8% | <i>Corynebacterium sp.</i> <i>Streptococcus sp.</i> | Le MALDI-TOF MS est utilisé en première ligne pour l'identification. Appareil : Axima Assurance (Shimadzu) |
| | | Genre | Non donné | | |
| Van Veen <i>et al.</i> 2010 [21] | Tout prélèvement de routine (n = 980) | Espèce | 92% | <i>Streptococcus pneumoniae</i> Bactéries anaérobies | Appareil : Microflex (Bruker Daltonik) |
| | | Genre | 98.8% | | |

Tableau I : Pourcentages d'identification obtenus par différentes études sur colonies bactériennes.

Le MALDI-TOF MS est donc capable d'identifier de façon fiable, des micro-organismes rencontrés en pratique courante mais aussi des espèces plus rarement isolées en clinique humaine.

Limites

La prise en main de la technique reste simple et aisée (maîtrise des dépôts essentiellement). La performance de l'identification dépend étroitement de la richesse et de la qualité de la base de

données constituée par des spectres de référence. Ces bibliothèques de données doivent être continuellement mises à jour par le constructeur et chaque laboratoire peut constituer sa propre base de données.

Il existe entre certaines bactéries des similarités spectrales qui peuvent conduire à leur mauvaise distinction par le MALDI-TOF MS (ex: *Shigella sp.* et *Escherichia coli*, streptocoques oraux et pneumocoques). Pour ces cas, il est nécessaire de confirmer l'identification par des tests phénotypiques addition-

nels, comme la sensibilité à l'optochine pour le pneumocoque.

Rapidité

Antérieurement au MALDI-TOF MS, l'identification à partir de la colonie bactérienne se faisait par des méthodes biochimiques qui nécessitaient une incubation de 18 à 24 heures pour être interprétable, soit 48 heures après l'arrivée du prélèvement au laboratoire. Aujourd'hui, l'identification s'effectue toujours à partir des colonies mais en un

temps largement réduit : pour un *spot* et donc pour une bactérie, il faut compter 10 à 20 secondes pour l'acquisition des spectres protéiques et 15 à 30 secondes pour la comparaison dans les bases de données [4]. Seng *et al.* ont estimé que pour 15 isolats (4 *spots* par isolat), le délai d'identification était de 90 minutes, soit 6 minutes par isolat (**fig. 3**) [2].

Suite à ces résultats, plusieurs études se sont penchées sur l'utilisation possible du MALDI-TOF MS directement à partir de prélèvements (ex : hémoculture détectée positive par l'automate d'incubation, urines). Cet usage du MALDI-TOF MS nécessite un traitement préalable des échantillons afin de séparer les bactéries des éléments

pouvant interférer avec le résultat de l'analyse (débris cellulaires, acides nucléiques...).

Cette application sur les hémocultures positives permet un gain de temps de 48 heures par rapport aux techniques classiques (**tableau II**). Lors d'épisodes infectieux graves, cette méthode permet

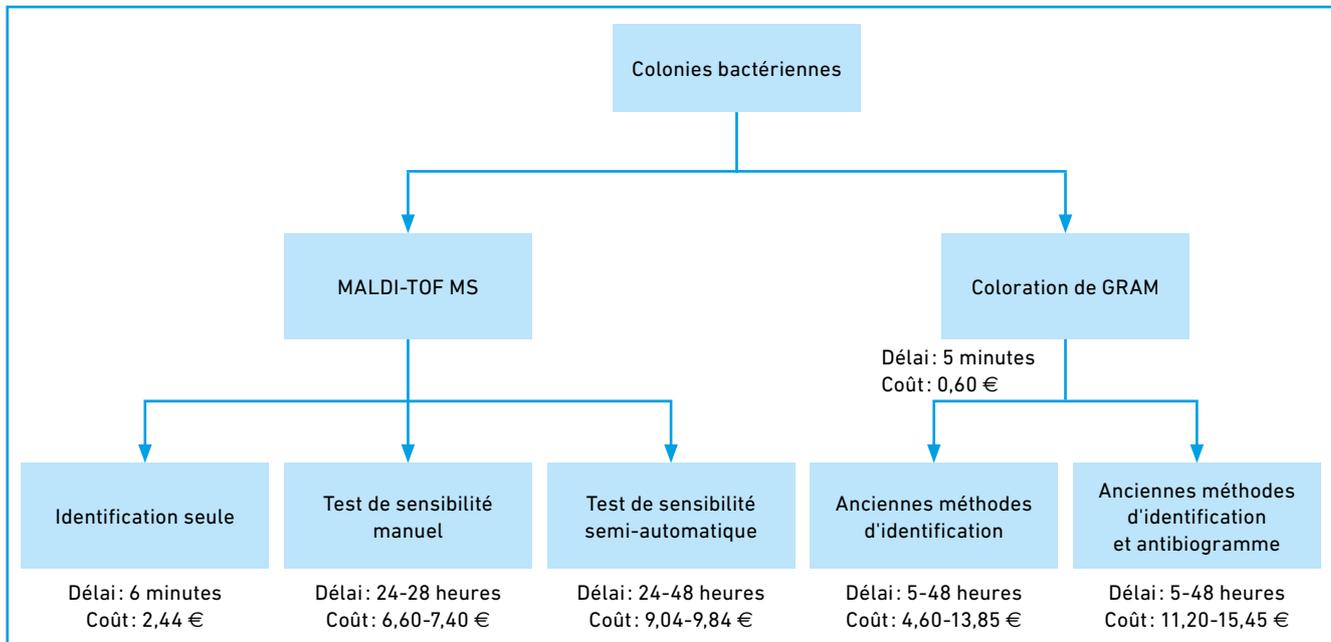


Fig. 3 : Données temps-coût des anciennes méthodes d'identification et du MALDI-TOF MS. Adaptée de Seng *et al.* [1].

| Auteurs | Échantillons | Pourcentage d'identification | | Principales difficultés | Remarques |
|------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------|--------------------------|--|---|
| Christner <i>et al.</i> 2010 [5]. | Hémocultures positives n = 277 | Espèce | 94.2 % | Cocci Gram + | Les difficultés d'identification résultent d'un <i>inoculum</i> bactérien insuffisant, plus fréquemment avec les Gram +. Appareil: Microflex LT (Bruker Daltonics) |
| | | Genre | 95 % | | |
| Moussaoui <i>et al.</i> 2010 [22]. | Hémocultures positives n= 532 | Espèce | 90 % | <i>Streptococcus mitis</i> group <i>Staphylococcus</i> sp. | Appareil : Biflex III (Bruker Daltonics) |
| | | Genre | GN: 91,1 % GP: 89 % | | |
| Ferreira <i>et al.</i> 2011 [23]. | Hémocultures positives n = 300 | Espèce | 42.6 % | <i>Streptococcus mutans</i> <i>Staphylococcus</i> sp. <i>Staphylococcus aureus</i> | Pas de culture polymicrobienne Appareil : Auto flex III (Bruker Daltonics) |
| | | Genre | 71.6 % | | |
| | | | GN: 83,3 % GP: 31,8 % | | |
| | | | GN: 96,6 % GP: 64,8 % | | |

GN : Gram négatif, GP : Gram Positif.

Tableau II : Performance des identifications sur flacons d'hémocultures détectées positives par l'automate d'incubation.

I Revues générales

d'informer le clinicien, d'une part, de la positivité du prélèvement et, d'autre part, du germe en cause, et de façon quasi simultanée. En attendant l'antibiogramme définitif, l'antibiothérapie probabiliste initiée est adaptée au germe identifié, en prenant en compte l'épidémiologie locale de la résistance. Pour être interprétable, il est nécessaire d'avoir un *inoculum* bactérien suffisant dans le flacon d'hémoculture [5]. Par ailleurs, lors de bactériémie polymicrobienne, l'identification des différents micro-organismes demeure difficile. Dans tous les cas, la culture est nécessaire au rendu définitif du résultat.

Parallèlement à l'identification directe sur flacons d'hémocultures, plusieurs équipes se sont intéressées à son utilisation sur les urines ou sur le liquide céphalo-rachidien (LCR). L'examen cyto-bactériologique des urines (ECBU) est essentiel pour le diagnostic des infections urinaires et la culture nécessaire pour quantifier et identifier le germe en cause. L'utilisation du MALDI-TOF MS directement sur l'urine permet, si elle est positive, de poser le diagnostic et de connaître son étiologie en quelques minutes (**tableau III**). Cette méthode est fiable à condition que les échantillons soient monomicrobiens et que la concentration bactérienne soit d'au moins 10^5 CFU/mL [6]. Cependant, cette stratégie d'identification sur les urines est difficile à développer en routine en raison du nombre important d'ECBU reçus au laboratoire et du manque de standardisation de

POINTS FORTS

- Le MALDI-TOF MS a révolutionné l'identification bactérienne dans les laboratoires de microbiologie.
- Cette méthode est rapide, très performante et peu onéreuse (hors achat de l'automate).
- Ses applications sont multiples. L'identification à partir des hémocultures et des urines (sous certaines conditions et après traitements), la détection des résistances et des facteurs de virulence sont possibles mais non généralisées en routine.

cette méthode. Concernant l'identification sur le LCR, le faible *inoculum* bactérien ainsi que le volume limité d'échantillon restreignent l'utilisation du MALDI-TOF MS, même si des résultats encourageants ont été rapportés [7,8]. Quoi qu'il en soit, la culture et la coloration de Gram ne doivent pas être abandonnées dans le processus d'identification.

■ Coût

Le coût d'investissement du MALDI-TOF MS (150 000 à 200 000 €) est évidemment beaucoup plus élevé que celui des automates classiques et la maintenance est également plus coûteuse. Cependant, les consommables et les réactifs nécessaires sont très restreints (milieux de culture, plaques de dépôt réutilisables, matrices, produits d'extraction...), ce qui a fortement

réduit le coût de l'identification hors investissement du spectromètre [9].

■ Autres domaines d'utilisation

Outre l'identification, de nouvelles applications du MALDI-TOF MS se sont développées. La détection des résistances acquises est un point essentiel pour la mise en route d'une antibiothérapie efficace contre la bactérie isolée dans l'infection. Bien que très peu utilisée, leur détection par MALDI-TOF MS a été analysée dans plusieurs études. La première approche consiste en l'identification de pics spécifiques associés à la résistance directement à partir du spectre d'identification. Ces pics signeraient la présence d'une protéine acquise, telle que certaines pénicillinases [10] ou carbapénémases [11] chez les entérobactéries, la PLP2A (protéine liant les pénicil-

| Auteurs | Échantillons | Pourcentage d'identification | | Principales difficultés | Remarques |
|----------------------------|---|------------------------------|---------------------------------|--|--|
| | | Espèce | Genre | | |
| Ferreira <i>et al.</i> [6] | Urines positives et $> 10^5$ UFC/mL n = 220 | Espèce | 91.8% GN: 93,6% GP: 66,6% | <i>Streptococcus</i> sp. <i>Enterococcus</i> sp. <i>Raoultella</i> sp. | Meilleurs résultats avec $> 10^5$ CFU/mL <i>E. coli</i> $> 10^5$ CFU/mL : 97,6 % identifications correctes. Appareil : Autoflex III (Bruker Daltonics) |
| | | Genre | 92.7% GN: 94,6% GP: 66,6% | | |

Tableau III : Pourcentage d'identification obtenu par MALDI-TOF MS sur urines positives. GN : Gram négatif, GP : Gram Positif.

lines 2A codée par le gène *mecA*) des *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline [12] ou la présence des protéines associées à la résistance aux glycopeptides chez les *Enterococcus faecium* possédant le gène *vanB* [13]. Cette approche bien qu'intéressante, ne permet cependant pas d'appréhender tous les mécanismes de résistance (diversité des enzymes hydrolysant les β -lactamines, par exemple) et les résultats observés dépendraient plus de la clonalité des souches étudiées que de véritables pics spécifiques de mécanismes de résistance. Une seconde approche a été proposée pour la mise en évidence de mécanismes de résistance enzymatique. Un bouillon de la bactérie d'intérêt est incubé avec l'antibiotique de choix. L'acquisition de spectres de l'antibiotique avant et après incubation permet d'observer des modifications spectrales dues à l'apparition de nouveaux pics correspondant aux métabolites de l'antibiotique hydrolysé [14,15]. Bien que séduisante, cette nouvelle application du MALDI-TOF MS reste très rarement utilisée en routine. Elle nécessite une calibration différente de celle utilisée pour l'identification et permet seulement de détecter la résistance pour un antibiotique ponctuel. Par ailleurs, d'autres techniques de détection rapide existent. Elles sont plus aisées et tout aussi efficaces.

Un autre usage du MALDI-TOF MS est le typage, essentiel au suivi épidémiologique. Les méthodes de référence sont l'électrophorèse en champs pulsé (PFGE) et le séquençage entier ou partiel du génome. Ces techniques sont longues, coûteuses et réservées à des laboratoires spécialisés. L'ensemble des avantages du MALDI-TOF MS pourrait aussi permettre le typage des souches en comparant les données des spectres d'identification. Même si le MALDI-TOF MS n'égale pas l'efficacité du génotypage, il existe quelques exemples intéressants. L'équipe de Lartigue *et al.* [16] a ainsi démontré la possibilité de détecter un streptocoque du groupe B "hyper-virulent" à l'origine

de pathologies néonatales. En effet, le clone ST-17 est identifiable grâce au décalage d'un pic sur le spectre d'identification. Pour les souches ST-1 responsables d'infections chez le nouveau-né et l'immunodéprimé, un changement spectral est également retrouvé mais ne semble pas spécifique du clone. À ce jour, l'absence d'études sur un nombre élevé de souches d'origines différentes et l'absence de recommandations d'interprétation des données limitent cette utilisation.

Enfin, à partir des données spectrales, il est aussi envisageable d'identifier des facteurs de virulence, comme des toxines. Différentes équipes se sont penchées sur la détection de la leucocidine de Pantone-Valentine de *Staphylococcus aureus* [17,18]. Cependant, ces résultats sont parfois contradictoires et le manque de standardisation rend impossible son utilisation en routine.

En conclusion, le MALDI-TOF MS est un outil d'identification très performant et adapté à l'activité de routine d'un laboratoire de microbiologie. Grâce à cette technique, le rendu des résultats s'est raccourci de 24 heures et se fait parfois le jour même du prélèvement. Les données spectrales utilisées pour l'identification permettent ponctuellement la recherche de résistances acquises, de facteurs de virulence ou la comparaison de souches entre elles. Cependant, la complexité de ces approches et l'absence de standardisation rendent difficile leur développement en routine.

BIBLIOGRAPHIE

1. KANG, C.-I. *et al.* Pseudomonas aeruginosa Bacteremia: Risk Factors for Mortality and Influence of Delayed Receipt of Effective Antimicrobial Therapy on Clinical Outcome. *Clin. Infect. Dis.*, 2003;37,745-751.
2. SENG, P. *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;49,543-551.
3. POWELL, E. A., BLECKER-SHELLY, D., MONTGOMERY *et al.* Application of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry for Identification of the Fastidious Pediatric Pathogens Aggregatibacter, Eikenella, Haemophilus, and Kingella. *J. Clin. Microbiol.*, 2013;51,3862-3864.
4. LAVIGNE, J.-P. & RIEGEL, P. Place de la spectrométrie de masse en bactériologie. *Ann. Biol. Clin.*, 2015;73,113-125.
5. CHRISTNER, M. *et al.* Rapid Identification of Bacteria from Positive Blood Culture Bottles by Use of Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization Time of Flight Mass Spectrometry Fingerprinting. *J. Clin. Microbiol.*, 2010;48,1584-1591.
6. FERREIRA, L. *et al.* Direct Identification of Urinary Tract Pathogens from Urine Samples by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry. *J. Clin. Microbiol.*, 2010;48,2110-2115.
7. HARTMEYER, G. N. *et al.* Mass spectrometry: Pneumococcal meningitis verified and Brucella species identified in less than half an hour. *Scand. J. Infect. Dis.*, 2010;42,716-718.
8. TADROS, M. & PETRICH, A. Evaluation of MALDI-TOF Mass Spectrometry and Sepsityper Kit™ for the Direct Identification of Organisms from Sterile Body Fluids in a Canadian Pediatric Hospital. *Can. J. Infect. Dis. Med. Microbiol.*, 2013;24,191-194.
9. GRAVET, A. & CAMDESSOUCENS-MIEHÉ, G. Application de la spectrométrie de masse à la microbiologie. *Rev. Francoph. Lab.*, 2011,55-64.
10. CAMARA, J. E. & HAYS, F. A. Discrimination between wild-type and ampicillin-resistant Escherichia coli by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2007;389,1633-1638.
11. HRABÁK, J., WALKOVÁ, R., ŠTUDENTOVÁ, V. *et al.* Carbapenemase Activity Detection by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry. *J. Clin. Microbiol.*, 2011; 49,3222-3227.
12. EDWARDS-JONES V. *et al.* Rapid discrimination between methicillin-sensitive and methicillin-resistant Staphylococcus aureus by intact cell mass spectrometry. *J. Med. Microbiol.*, 2000;49, 295-300.
13. GRIFFIN, P. M. *et al.* Use of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry to Identify Vancomycin-Resistant Enterococci and Investigate the Epidemiology of an Outbreak. *J. Clin. Microbiol.*, 2012;50, 2918-293.

Revue générale

14. SPARBIER, K., SCHUBERT, S., WELLER, U. *et al.* Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry-Based Functional Assay for Rapid Detection of Resistance against β -Lactam Antibiotics. *J. Clin. Microbiol*, 2012;50,927-937.

15. LEDEBOER, N. A. & HODINKA, R. L. Molecular Detection of Resistance Determinants. *J. Clin. Microbiol*, 2011;49,20-24.

16. LARTIGUE, M.-F. *et al.* Rapid detection of ‘highly virulent’ Group B Streptococcus ST-17 and emerging ST-1 clones by MALDI-TOF mass spectrometry. *J. Microbiol. Methods*, 2011;86,262-265.

17. BITTAR, F., OUCHENANE, Z., SMATI, F. *et al.* MALDI-TOF-MS for rapid detection of staphylococcal Pantone–Valentine leukocidin. *Int. J. Antimicrob Agents*, 2009;34,467-470.

18. DAUWALDER, O. *et al.* Detection of Pantone–Valentine toxin in Staphylococcus aureus by mass spectrometry directly from colony: time has not yet come. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2010;36,193-194.

19. 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*, 2010;48, 1549-1554.

20. GRAVET, A. *et al.* Bilan de l’utilisation en routine de la spectrométrie de masse dans un laboratoire hospitalier de microbiologie. *Pathol. Biol*, 2011;59,19-25.

21. VEEN, S. Q. VAN, CLAAS, E. C. J. & KUIJPER, E. J. High-Throughput Identification of Bacteria and Yeast by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry in Conventional Medical Microbiology Laboratories. *J. Clin. Microbiol*, 2010;48,900-907.

22. MOUSSAOULI, W. *et al.* Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry identifies 90% of bacteria directly from blood culture vials. *Clin. Microbiol. Infect*, 2010;16, 1631-1638.

23. FERREIRA, L. *et al.* Microorganisms direct identification from blood culture by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin. Microbiol. Infect*, 2011;17,546-551.

Les auteurs ont déclaré ne pas avoir de conflits d’intérêts concernant les données publiées dans cet article.



BULLETIN D’INSCRIPTION À RETOURNER À : PERFORMANCES MÉDICALES – 91, AVENUE DE LA RÉPUBLIQUE – 75011 PARIS

Nom :

Prénom :

Adresse :

Ville/Code postal :

Téléphone :

Fax :

E-mail :

Mode de paiement

Par chèque (à l’ordre de Performances Médicales)

Par carte bancaire n°

(À l’exception d’American Express)

Date d’expiration : Cryptogramme :

Signature :

Possibilité de paiement en ligne sur www.jirp.info (paiement sécurisé)

Droits d’inscription

Les droits d’inscription comprennent :

- L’accès aux conférences,
- L’accès aux pauses-café et aux déjeuners-buffet.

Médecins

- Totalité du congrès : 200 €
- 1 jour de congrès : 140 €

Précisez le jour : Jeudi 23 Vendredi 24

DES/DIS/Étudiants

- Totalité du congrès : 130 €
- 1 jour de congrès : 100 €

Précisez le jour : Jeudi 23 Vendredi 24

Transports



SNCF : 20 % de réduction sur les trajets aller/retour.

Je souhaite un fichet SNCF.

Transport aérien : lors de la confirmation de votre inscription, le numéro d’agrément **29220AF**. Il vous permettra d’obtenir des réductions sur les transports aériens.



Hébergement

Je souhaite recevoir une liste d’hôtels proches du Palais des Congrès de Versailles (liste également disponible sur le site Internet: www.jirp.info)