

Metoda: MALDI TOF (identifikace mikroorganismů hmotnostní spektrometrií)

Student(ka): Nela Huňátová, ZL2

Školitelé: Libuše Holečková (vrchní laborantka Oddělení klinické mikrobiologie KKN)

Princip: MALDI (matrix assisted laser desorption/ionization) TOF (time-of-flight)

MALDI se používá s detektorem doby letu (TOF), jelikož tento detektor dokáže změřit dobu průletu a z ní lze poté vypočítat rychlost částice. Tato hmotnostní spektrometrie funguje na principu laseru, který ozáří nanosekundovým pulsem směs vzorku a matrice. Matrice absorbuje energii pulsu a její rozklad ionizuje molekuly vzorku. Poté jsou na krátkou vzdálenost pozitivně nabitě ionty urychleny silným elektrickým polem a vstupují do vakua v trubici detektoru, kde se pohybují rychlostí úměrnou jejich hmotnosti a náboji. Doby letu iontů jsou velmi přesně měřeny a výpočetně se konvertují na poměr molekulové hmotnosti a náboje. Získaná hmotnostní spektra jsou pro velký počet mikroorganismů druhově specifická a představují jejich molekulární identifikátor, fingerprint.

Uplatnění metody: MALDI TOF nachází uplatnění ve více oblastech. Například v oblasti biochemie se tato metoda využívá pro analýzu metabolických produktů organismu, biologických markerů nebo bakteriálních toxinů. Nově nachází uplatnění i při rozpoznávání posttranslačních modifikací proteinů (např. fosforylace nebo methylyace). V oblasti molekulární biologie napomáhá při rozpoznávání mutací genů. V laboratořích klinické mikrobiologie se MALDI-TOF nejčastěji využívá k identifikaci bakterií, kvasinek i vláknitých hub, a to na úrovni rodu i druhu. Tato metoda se využívá nejen v mikrobiologických laboratořích, ale i v laboratořích se zaměřením na potravinářství, vodohospodářství nebo na ochranu zdraví obyvatelstva. Lze kombinovat i s různými separačními technikami (např. elektroforéza nebo kapalinová chromatografie).

Úskalí metody: Jedna z nevýhod této metody je vysoká počáteční investice do hmotnostního spektrometru MALDI TOF. Další nevýhoda je například neschopnost indentifikovat některé bakterie do druhové úrovně (například rod *Streptococcus*) nebo neschopnost odlišit geneticky příbuzné rody (například rody *Escherichia* a *Shigella*).

Přístrojové vybavení: K této metodě se využívá hmotnostní spektrometr Microflex LT s iontovým zdrojem microSCOUT a analyzátozem doby letu TOF ve spojení se softwarovým systémem MALDI Biotyper. Dále je potřebná ocelová destička.

Odběr a transport: Všechny odběry pro bakteriologické vyšetření by měly být provedeny před zahájením antibiotické léčby. Do odběrové soupravy Amies se odebírají výtěry či stěry. Do sterilní zkumavky se odebírají tekuté materiály. Do speciální odběrové lahvičky s tekutou kultivační půdou se odebírá krev na hemokultivaci. U mykobakteriologických vyšetření se tekutý materiál zasílá ve sterilní zkumavce.