

IDENTIFIKACE PATOGENNÍCH MIKROORGANIZMŮ BĚHEM DVOU MINUT? ANO – AXIMA MALDI TOF

Mnoho nemocí je zapříčiněno infekcí mikroorganismy. Léčení těchto onemocnění je možné pouze tehdy, pokud můžeme tyto mikroorganismy identifikovat. K tomu převážně slouží mikrobiologické metody, např. použití enzymatických aktivit ve spojení s vhodným substrátem apod. Nevýhodou těchto metod je pracnost a jejich časová náročnost. A právě díky těmto aspektům je snaha vyvinout metodu rychlou, robustní, ale zároveň i přesnou.

Firma Shimadzu Corp., jeden z předních výrobců analytických přístrojů na světě, vyvinula společně s firmou AnagnosTec. systém, který je založen na identifikaci mikroorganismů na přístroji AXIMA MALDI TOF a softwaru vč. databáze SARAMIS.

Obr. – Shimadzu AXIMA MALDI TOF



MALDI TOF (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization/Time of Flight) hmotnostní spektrometr byl vyvinut v 80. letech minulého století. Shimadzu Corp. byla jednou z prvních firem na světě, která MALDI TOF vyvíjela a následně uvedla na trh. Zásahu na vývoji a výrobě měl pan Koichi Tanaka, který byl za vývoj MALDI TOF oceněn v roce 2002 Nobelovou cenou za chemii. Obecně lze říci, že MALDI TOF využívá měkké ionizace maticí, která je bombardována krátkými impulzy laseru a je vhodná pro identifikaci široké škály molekul z pohledu na jejich hmoty, možné je také využití u menších molekul o hmotě desítek Da až po proteiny o hmotě v kDa.

Využití MALDI TOF pro stanovení mikroorganismů je možné. Zde se hmota pohybuje v rozmezí cca 2000 až 20000 Da, často též nazývaném nízkomolekulární proteomika – LMWP.

Vlastní stanovení mikroorganismů je velmi jednoduché a rychlé. Mikroorganismy jsou přeneseny z kultivačního média na destičku (držák vzorku), která může mít až 384 pozic, přidá se matrice (např. 2,5-dihydroxybenzoová kyselina), vzorek s maticí se nechá vykristalizovat a vloží se do AXIMA MALDI TOF. Zde v hlubokém vakuu (menším než 10^{-4} Pa) je vzorek s maticí bombardován po dobu nanosekund laserem. Vzniklé ionty jsou analyzovány po průletu trubicí a dopadu na detektoru na základě doby dopadu, která je úměrná molekulové hmotě. Vzniklé hmotnostní spektrum je charakteristické pro daný mikroorganismus a slouží k jeho identifikaci.

Bombardování vzorku s maticí a načtení hmotnostního spektra je hotovo během cca jedné minuty.

Identifikace je prováděna porovnáním spekter s databází, která je součástí softwaru SARAMIS, kam jsou hmotnostní spektra automaticky transportována z AXIMA MALDI TOF. Ke stanovení mikroorganismu je používáno tzv. SuperSpektrum z databáze, které je porovnáváno s hmotnostním spektrem naměřeným. Díky použitému algoritmu je možné identifikovat i směs mikroorganismů v jednom vzorku.

SARAMIS byl testován Ústavem lékařské mikrobiologie, imunologie a hygieny Univerzity v Kolíně nad Rýnem na více než 1300 různých klinických vzorcích. Tyto vzorky byly analyzovány jak pomocí biochemických metod, tak i pomocí systému SARAMIS. 94 % vzorků bylo identifikováno automaticky, pouze 5 % vzorků nebylo možné identifikovat porovnáním se SuperSpektry.

Závěrem lze konstatovat, že systém AXIMA MALDI TOF a SARAMIS je vhodné použít k identifikaci resp. monitorování mikroorganismů v rutinních klinických laboratořích, a to zejména díky vysoké rychlosti a poměrně vysoké přesnosti. Jedná se o novou a progresivní metodu, která se stále vyvíjí, především díky přibývajícím SuperSpektrům do databáze SARAMIS.

V případě, že máte zájem o další informace o AXIMA MALDI TOF – SARAMIS, kontaktujte nás na cz@shimadzu.eu.com.

Ing. Theodor PETŘÍK, CSc., Shimadzu Handels GmbH organizační složka