

Hogyan segíti a MALDI-TOF MS az aerob baktériumok gyors species identifikálását

Kardos Gábor
DEOEC Orvosi Mikrobiológiai Intézet

Módszerek

- Biokémiai profil
 - „csöves” biokémia
 - ID kitek (API, Cristal, Biolog, stb.)
 - automaták (Vitek, Phoenix, stb.)
- Szerológiai profil
- DNS-alapú
 - PCR
 - szekvenálás
- Kémiai analitikai módszerek (MS, IR, etc.)

Műszeres analitika&mikrobiológia

- 1973; Simmonds: pirolízis MS (Mars vizsgálatok)
- 1975; Anhalt: pirolízis MS (foszfolipidek&ubikinonok)
- 1987; Heller: FAB MS (lipidek lizátumból)
- 1996; többen: MALDI MS (teljes sejtek)

- FT-IR
- Raman-spektroszkópia
- MALDI-TOF

Mi a MS?

a célpont molekulák ionizációja (ionforrás)

- a mintákból valamilyen módon ionokat szabadítunk fel
- pirolízis, FAB, ES, MALDI, DESI

az ionokat tömeg/töltés alapján szeparáljuk (analizátor)

- gyorsítófeszültség, majd
- ion szelekció (mágnes, TOF, ioncsapda etc.)

az ionokat detektáljuk (detektor)

- tömegspektrum

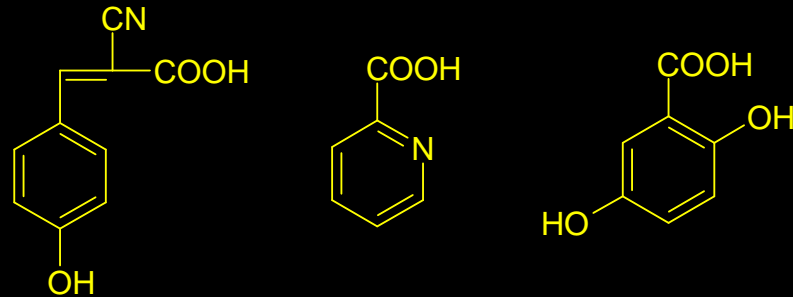
a spektrumokat interpretáljuk

- adott molekula azonosítása (pl. fragmentáció alapján)
- a spektrum alapján a minta azonosítása (adatbázis)

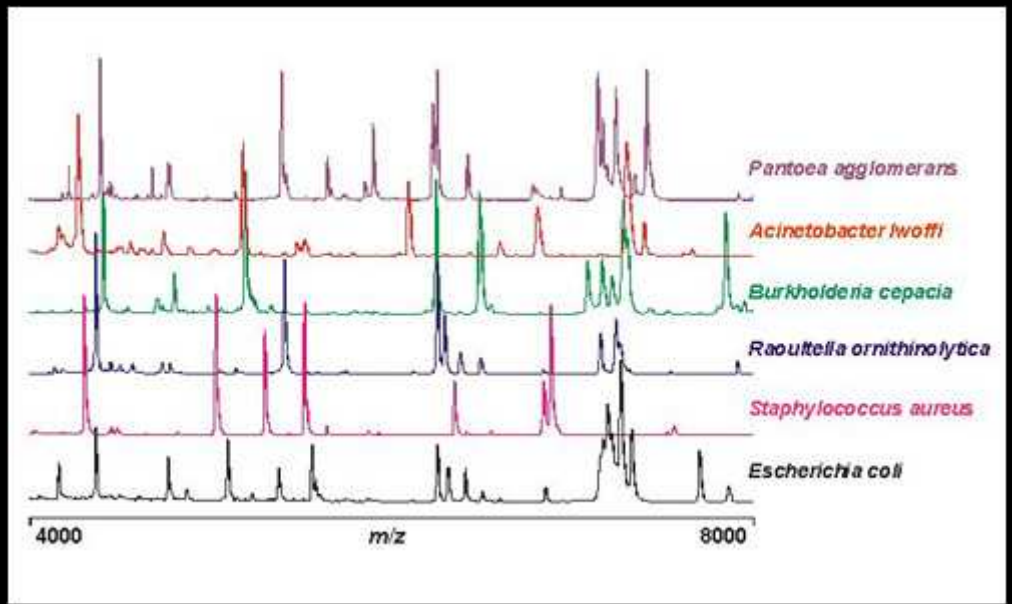
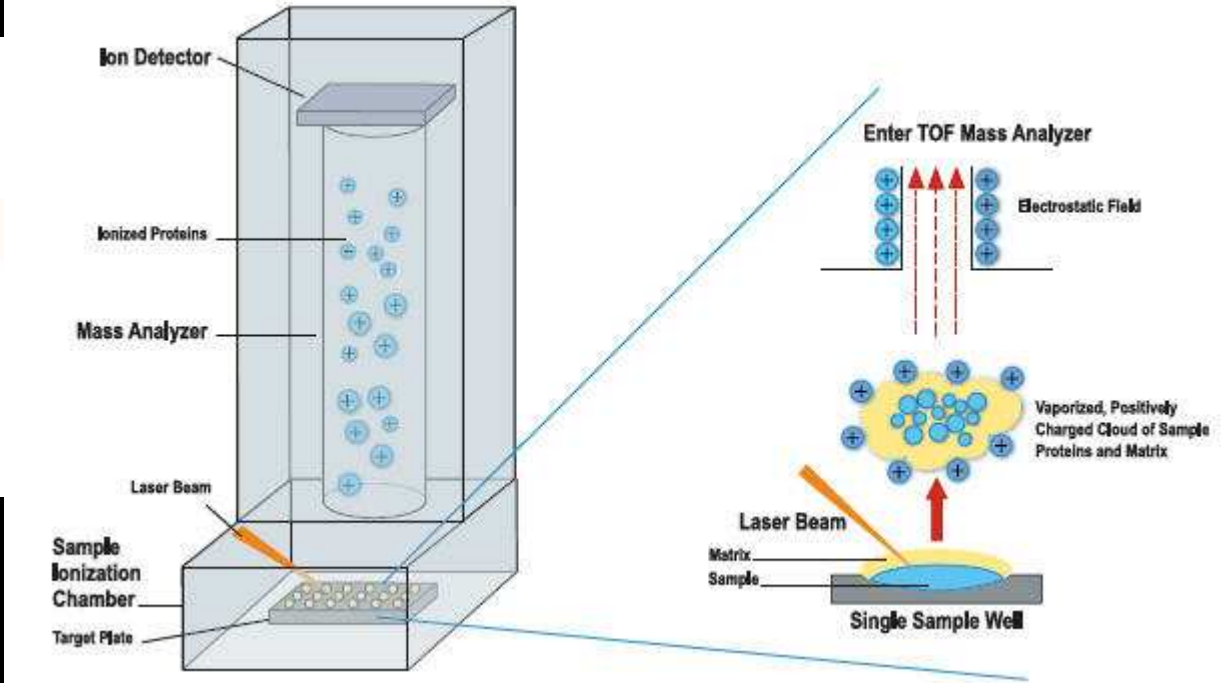
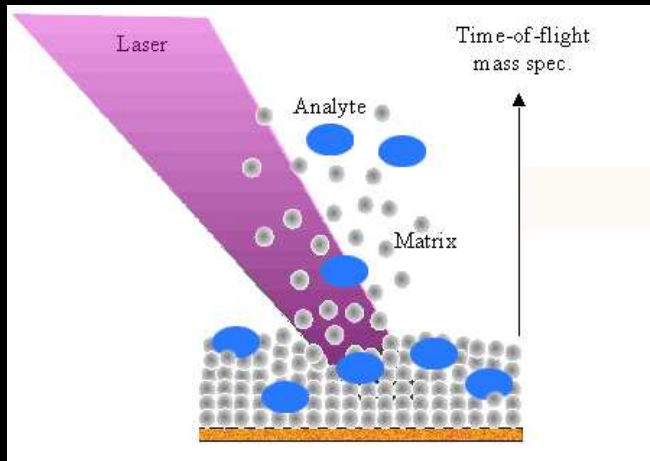
Mi a MALDI-TOF?

- Olyan MS, ahol a MALDI ionforráshoz TOF detektor csatlakozik
- MALDI

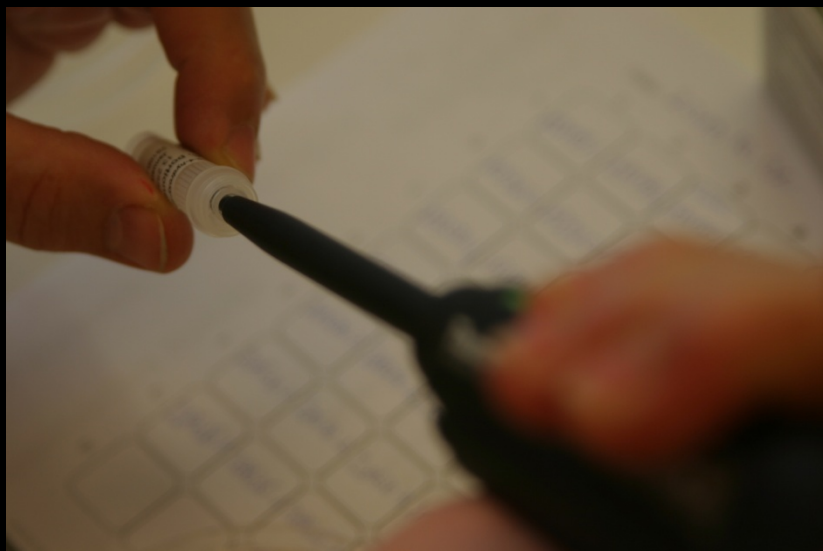
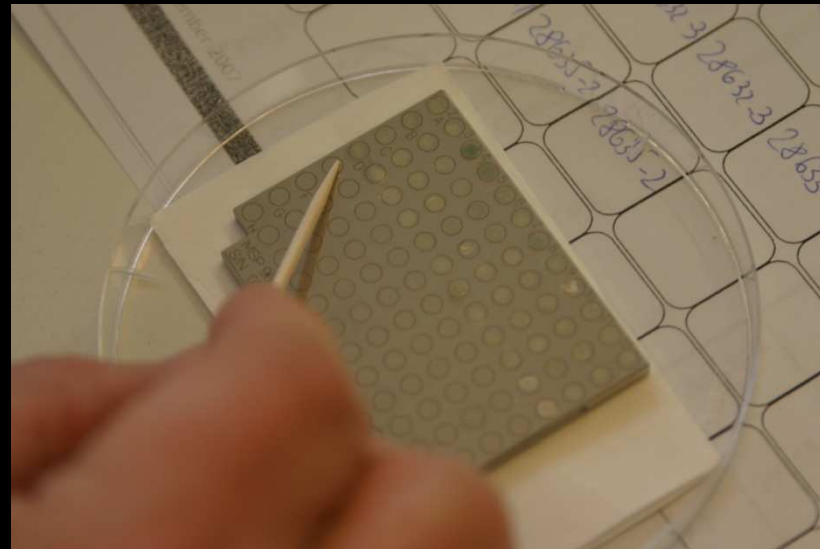
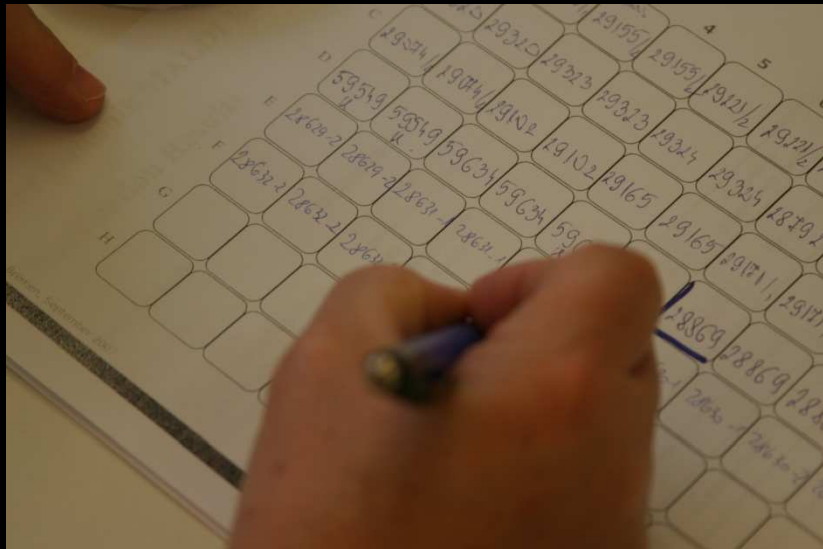
- mátrix
- oldószer (víz+acetonitril+TFA)



- együttkristályosodás az analit molekulákkal
- a mátrix jól elnyeli a lézer energiáját és közvetíti azt az analit molekuláiknak
- lézer
- az analit fehérjéi ionizálódnak (+1 töltést vesznek fel) és deszorbeálódnak
- TOF
 - gyorsítófeszültséget követően az ionok szabadon repülnek
 - az elválasztás alapja a detektorhoz érkezésig eltelt idő
- Adatbázis
 - az átlagolt spektrumokat az adatbázishoz hasonlítja a szoftver
 - >6000 rDNS szekvencia alapján azonosított törzs az adatbázisban



A MALDI-TOF használata



MALDI-TOF vs. biokémia

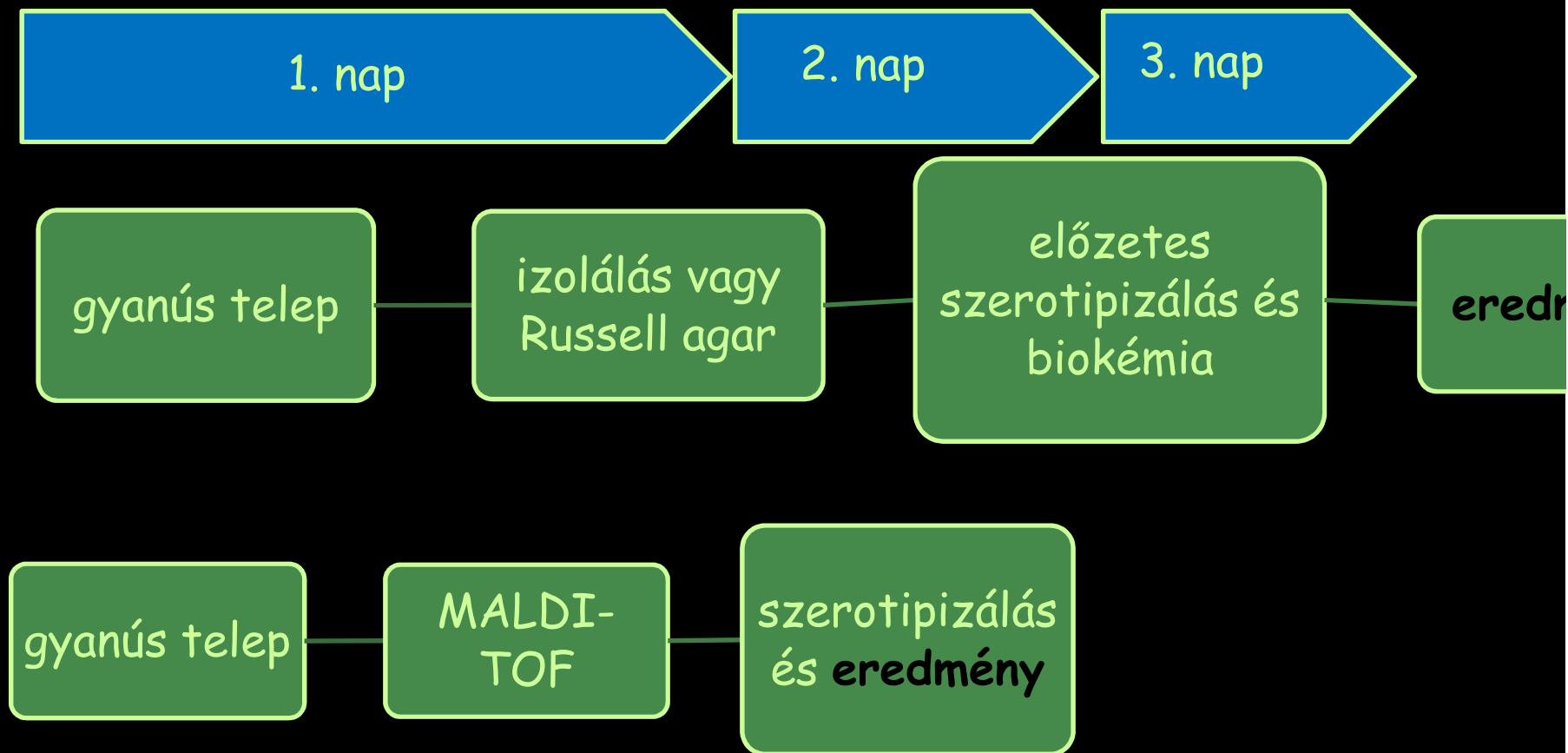
Hagyományos azonosítás

- másnapra
- gyakran csak genus szintig
- előzetes azonosítás (Gram festés, stb.) szükséges
- sok különböző táptalajt igényel
- ritka kórokozók azonosítása pontatlan és nehézkes
- laborok közötti összehasonlíthatóság kicsi
- beruházás igény nincs
- működési költség magas
- sok veszélyes hulladék
- törzs szintű azonosítás nem lehetséges

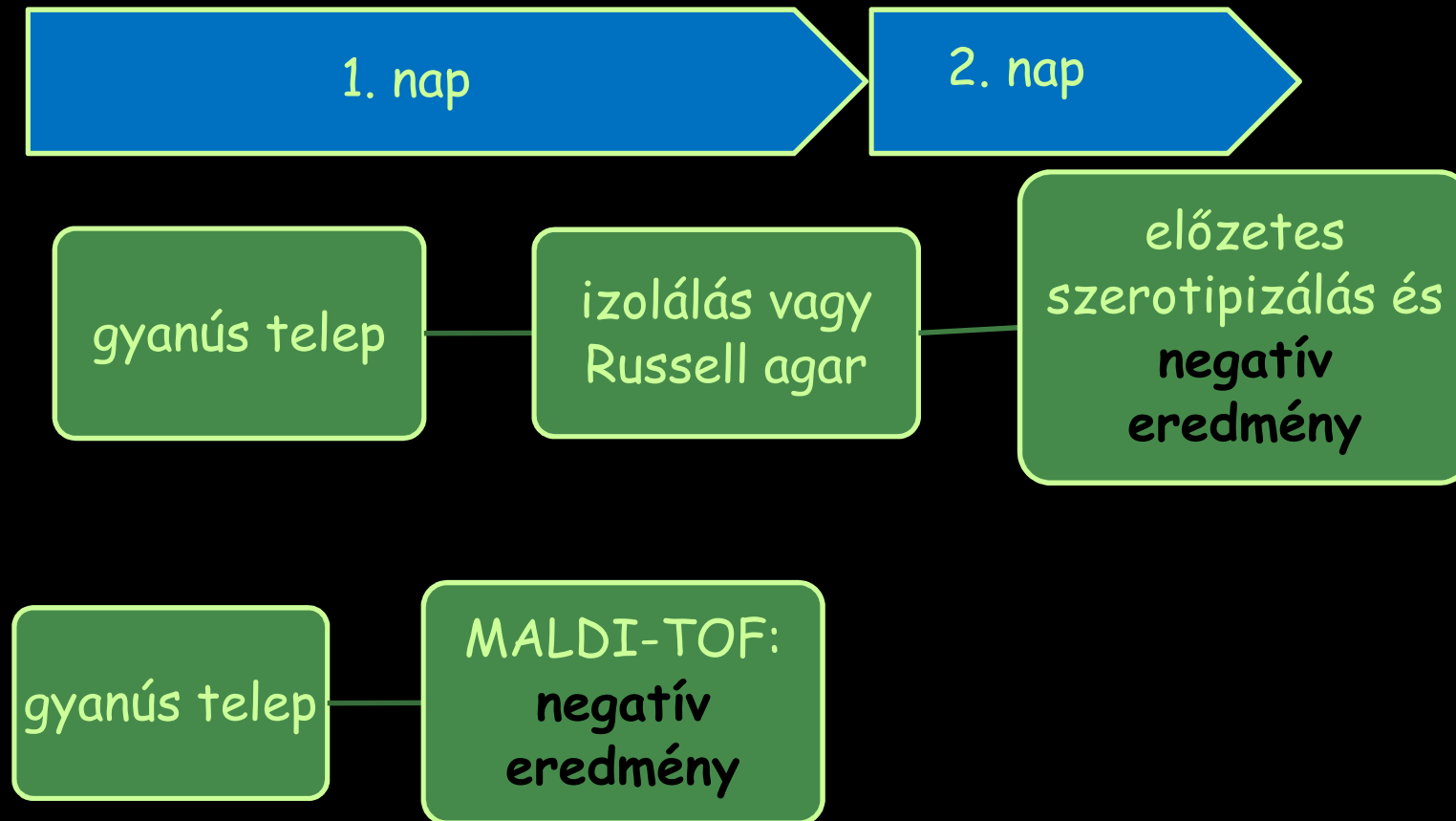
MALDI-TOF

- 1 órán belül
- általában species szintig
- előzetes azonosítás nélkül is jól teljesít
- nem igényel felkészülést
- jól azonosít ritka kórokozókat is
- jó a laboratóriumok közötti reprodukálhatóság
- bekerülési költség magas
- minimális mennyiségű hulladék
- működési költség alacsony
- lehetőség törzs szintű azonosításra

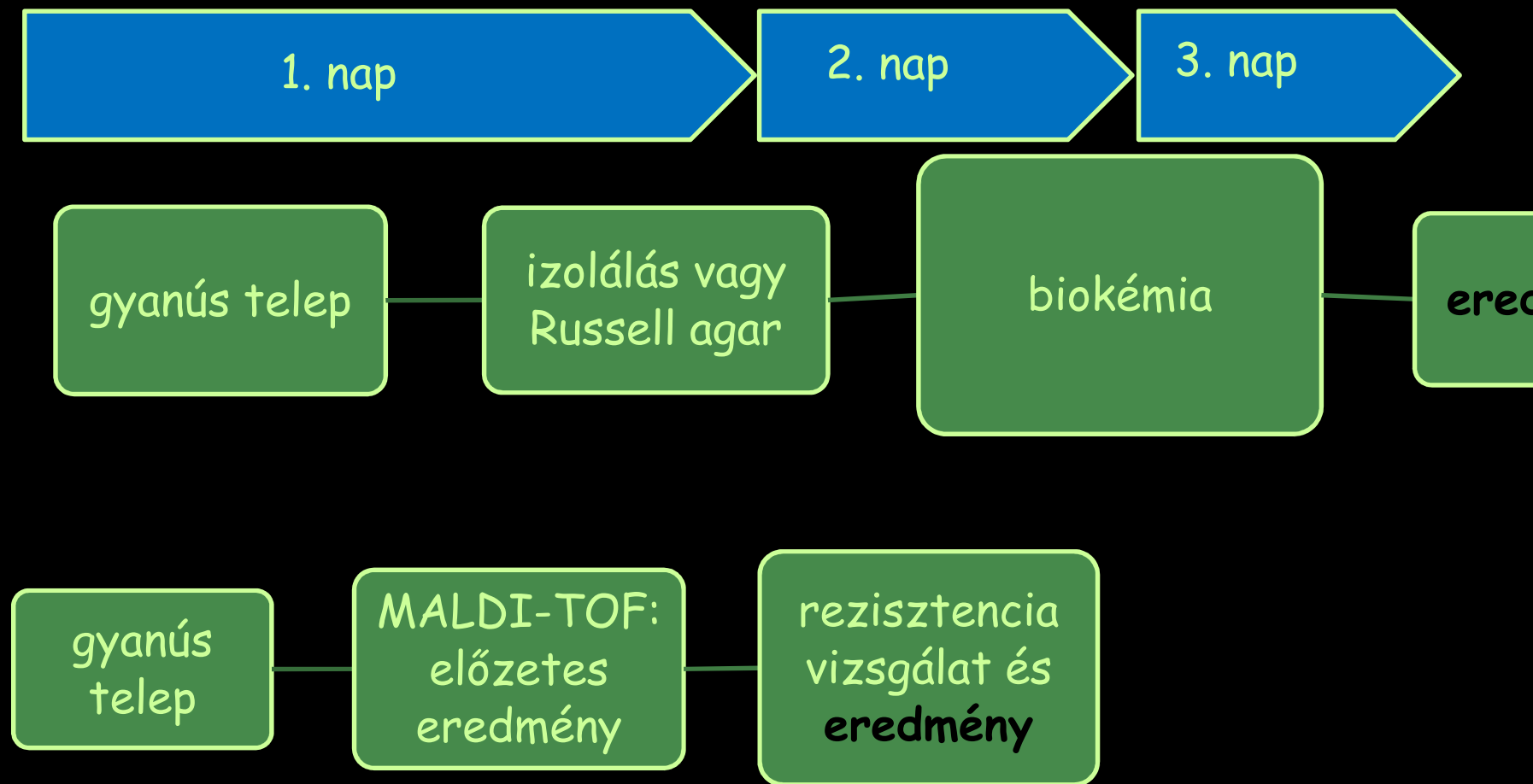
MALDI-TOF az enterális laborban: *Salmonella*



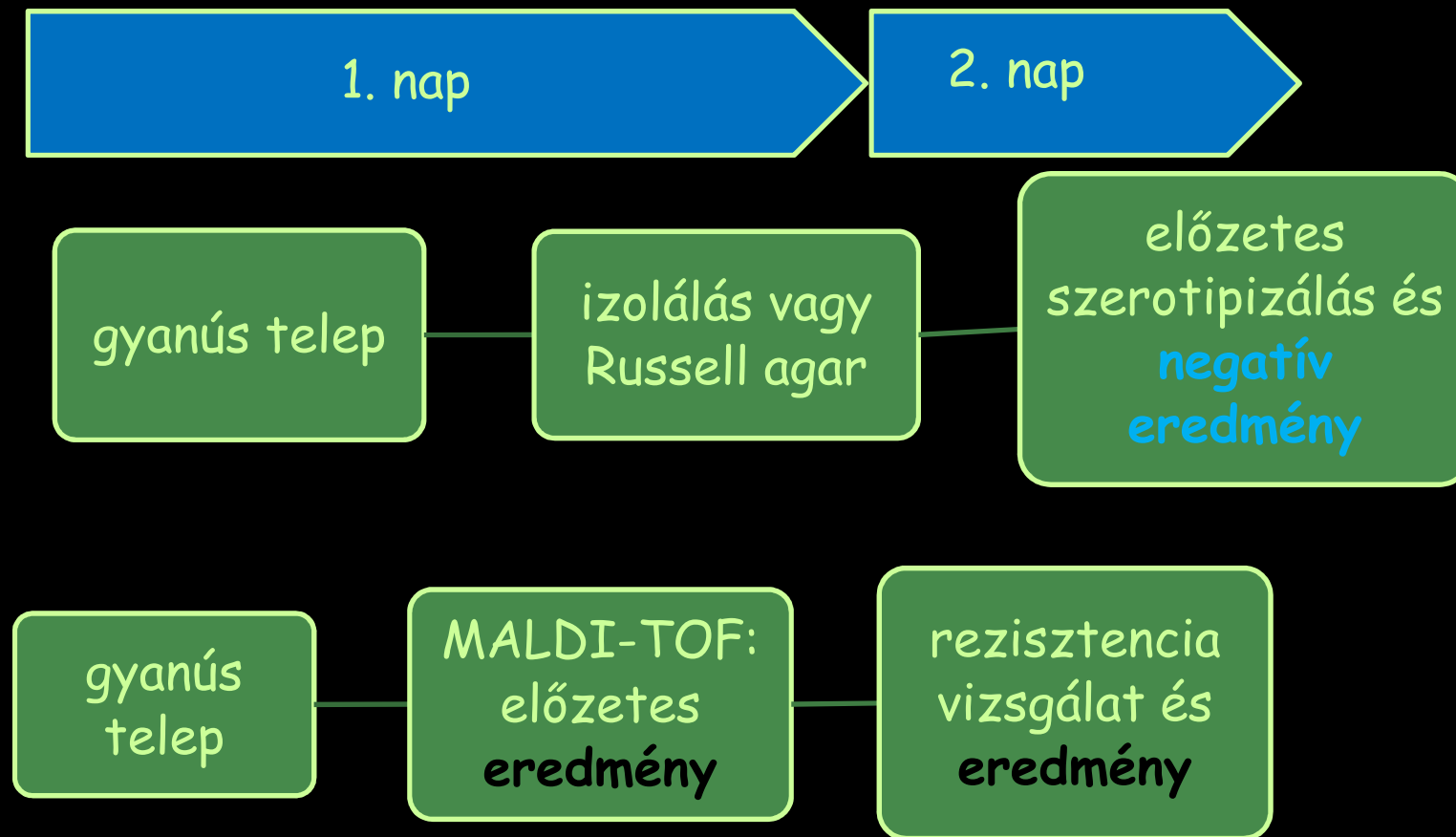
MALDI-TOF az enterális laborban: *Citrobacter*



MALDI-TOF az enterális laborban: *Aeromonas*



MALDI-TOF az enterális laborban: *Providencia*



MALDI-TOF az enterális laborban: előnyök és limitációk

- Nem kórokozók gyanús telepeinek azonosításával a negatív leletek kiadását meggyorsítja és sok továbboltást (Russell agart) megtakarít
- A kórokozók gyanús telepeinek azonosításával lerövidíti a pozitív lelet kiadásához szüksége időt és sok továbboltást (Russell agart, biokémiai tesztet) megtakarít
- A *Campylobacter* fajokat faj szinten pontosan azonosítja
- Megtalál hagyományos módon nehezen azonosítható kórokozókat
- Nem segít a *Shigella* és az enterovirulens *E. coli* diagnosztikájában

Összefoglalás

- A MALDI-TOF a hagyományosan alkalmazott eljárásoknál gyorsabban, olcsóbban és pontosabban azonosítja a kórokozó baktériumokat
- Az enterális laboratóriumban a leletátfordulási időt a MALDI-TOF legalább egy nappal lecsökkenti, sok esetben a gyanú a primokultúra vizsgálatának a napján (24 órán belül) közölhető

Köszönöm a figyelmet!