

# Identifikace bakterií hmotnostní spektrometrií MALDI TOF

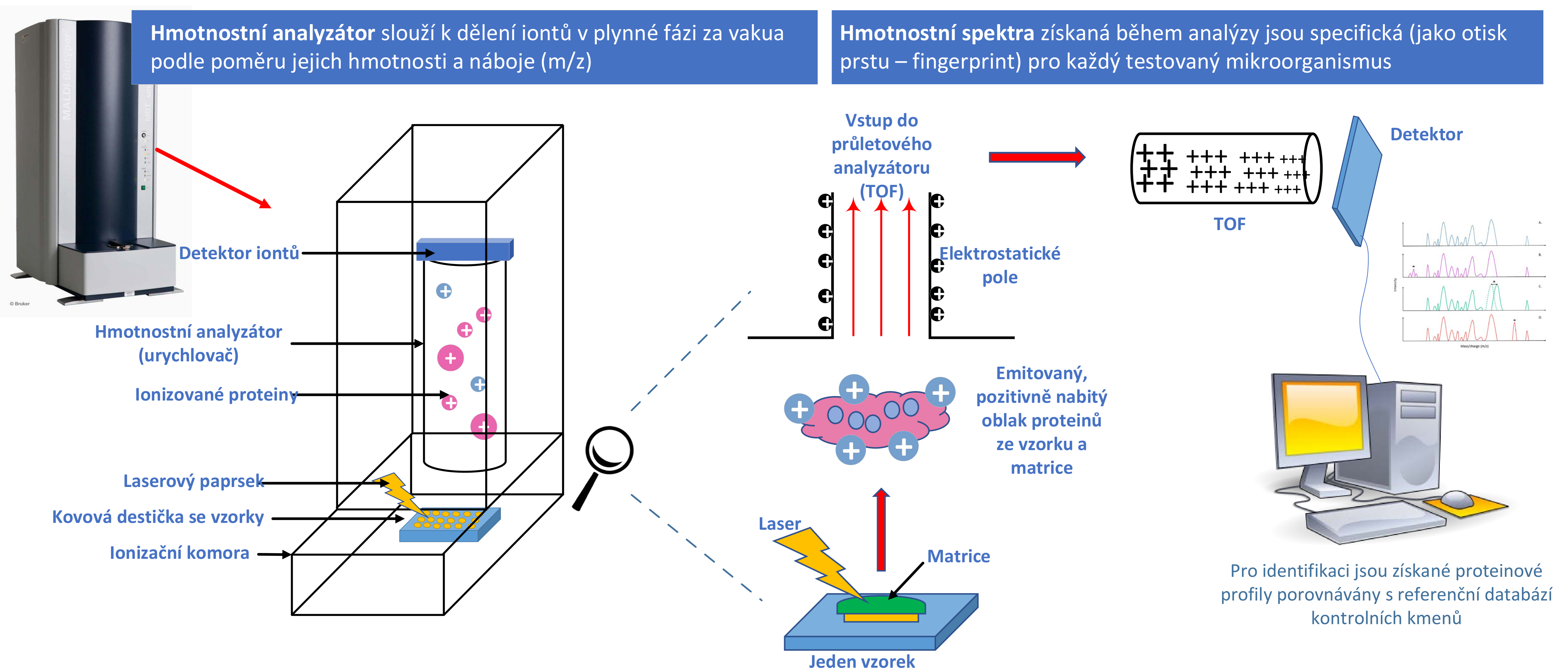
**Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry**  
(Hmotnostní spektrometrie s laserovou desorcí a ionizací za účasti matrice s průletovým analyzátozem)

- MALDI-TOF je šetrná ionizační technika, při které dochází k tvorbě iontů bez fragmentace molekul. Ionizace vzorku probíhá působením matrice (např.  $\alpha$ -kyano-4-hydroxyskořicová kyselina, aj.), která zajišťuje kontakt analyzované molekuly s laserem tak, aby nebyla biomolekula atakována přímo a štěpena nežádoucím způsobem. Zároveň matrice absorbuje energii dodanou laserovým paprskem. Excitované molekuly matrice následně ionizují vzorek přenosem protonu za vzniku pseudomolekulového iontu  $[A+H]^+$ . Ionty jsou pak na krátkou vzdálenost urychleny silným elektrickým polem a vstupují do vakua v trubici detektoru (hmotnostní analyzátor doby letu), kde se pohybují rychlostí úměrnou jejich hmotnosti a náboji. Hmotnostní analyzátor měří čas potřebný k tomu, aby každý iont dosáhl detektoru, a zaznamenává čas průletu (TOF). Získané hodnoty se převádí na poměr molekulové hmotnosti a náboje ( $m/z$ ).
- Hmotnostní spektra získaná během analýzy jsou specifická (jako otisk prstu – fingerprint) pro každý testovaný mikroorganismus. Pro identifikaci mikroorganismů jsou získané proteinové profily porovnávány s referenční databází kontrolních kmenů. Míra spolehlivosti identifikace je hodnocena na základě tzv. skóre (nejvyšší možná hodnota je 3) vyjadřujícího shodu hmotnostního spektra vyšetřovaného vzorku s referenčním molekulárním identifikátorem v databázi MALDI Biotyper.
- Analýza vzorku probíhá na přístroji MALDI-TOF MS, jehož schéma je uvedeno níže. Vzorky jsou nanášeny na povrchu kovové destičky. Vyhodnocení probíhá speciálním softwarovým systémem např. MALDI Biotyper (upraveno podle <http://umtk.vscht.cz/miniatlas-vad/metody/maldi-tof-ms/>).

## Schéma MALDI TOF MS

Hmotnostní analyzátor slouží k dělení iontů v plynné fázi za vakua podle poměru jejich hmotnosti a náboje ( $m/z$ )

Hmotnostní spektra získaná během analýzy jsou specifická (jako otisk prstu – fingerprint) pro každý testovaný mikroorganismus



## Názorné schéma zařazení MALDI TOF MS do diagnostického postupu na příkladu furunkulózy lososovitých ryb

$m/z$					
(+)(B)	12006 AN	Staphylococcus felis	1.721	not reliable identification	1.828
(+)(B)	12006 AN	Staphylococcus felis	1.836	Staphylococcus felis	1.7
(-)(C)	12006 AN	no peaks found	1.8	no peaks found	1.8
(+)(B)	12006	Staphylococcus felis	1.722	Staphylococcus felis	1.721
(+)(B)	12006	Staphylococcus felis	1.708	not reliable identification	1.631
(+)(A)	12006	Staphylococcus felis	1.806	Staphylococcus felis	1.82
(+)(B)	12007 AN	<i>Aeromonas salmonicida</i>	1.736	<i>Aeromonas bestiarum</i>	1.736
(+)(A)	12007 MC	<i>Aeromonas sp[2]</i>	1.804	<i>Aeromonas salmonicida</i>	1.827
(+)(A)	12007 M	<i>Pasteurella multocida</i>	1.733	<i>Pasteurella multocida</i>	1.733
(+)(A)	12007 DR	<i>Corynebacterium felinum</i>	1.733	not reliable identification	1.63

Range	Description	Symbols	Color
2.300 ... 3.000	highly probable species identification	(+++)	green
2.000 ... 2.299	secure genus identification, probable species identification	(++)	green
1.700 ... 1.999	probable genus identification	(+)	yellow
0.000 ... 1.699	not reliable identification	(-)	red

*Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*