

# Identifikace bakterií pomocí MALDI MS

Ondrej Šedo

*Centrální laboratoř speciálních technik, Oddělení funkční genomiky a proteomiky*

*Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta*

*Masarykova univerzita*

**Pracovní den ČSKB Brno 10. 11. 2010**

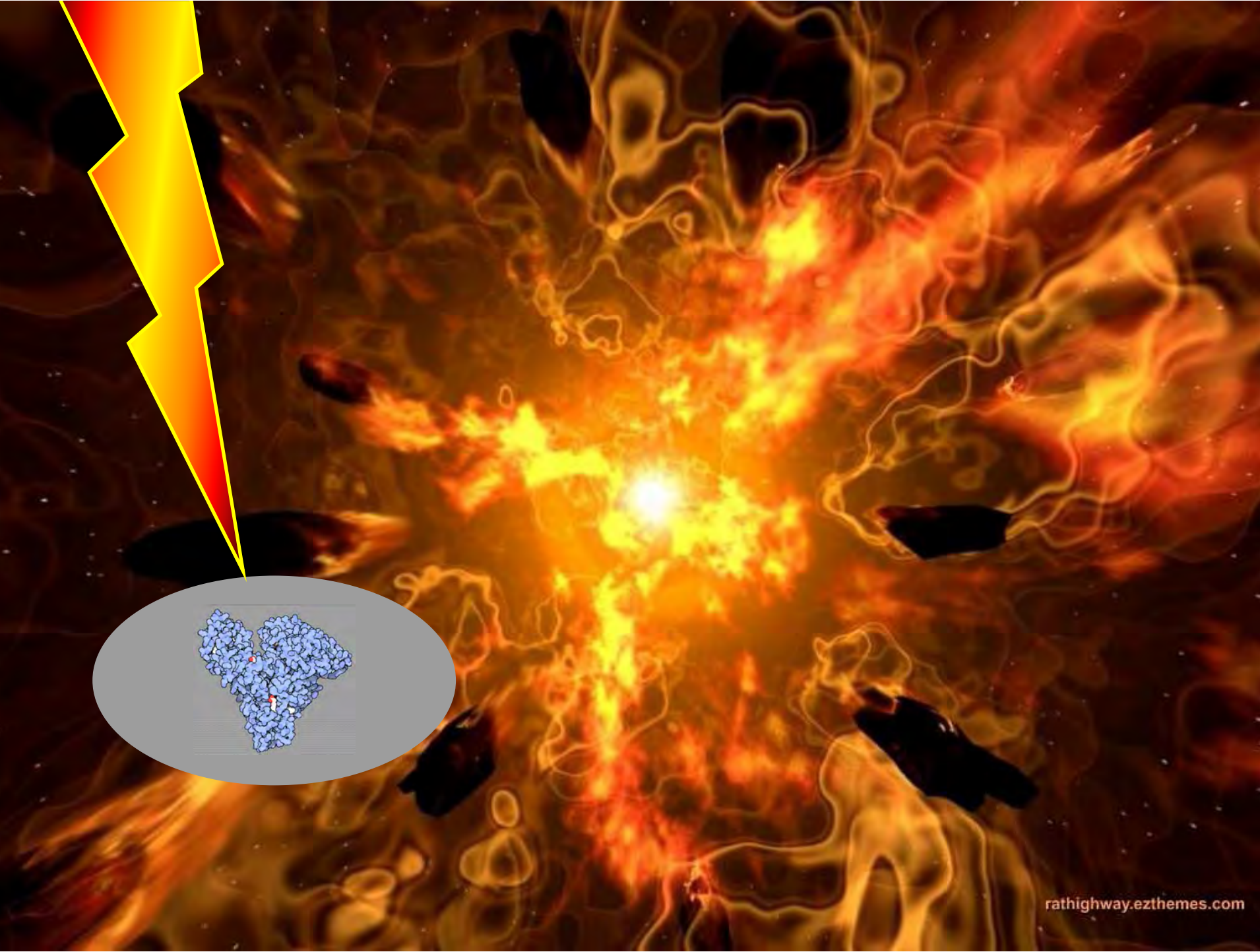


# **Identifikace bakterií pomocí MALDI MS**

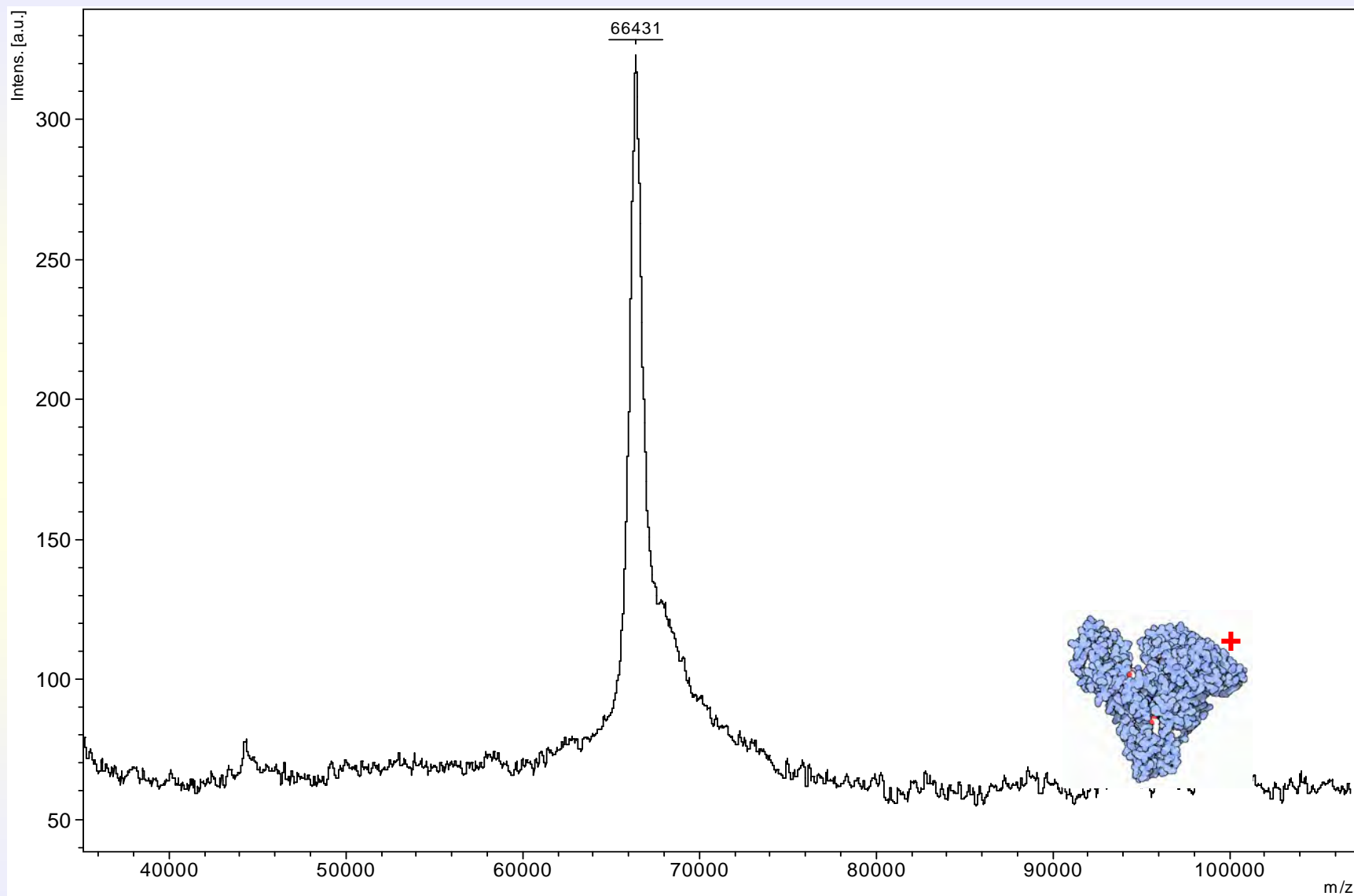
## **1. Princip metody MALDI MS**

## **2. Využití v praxi**

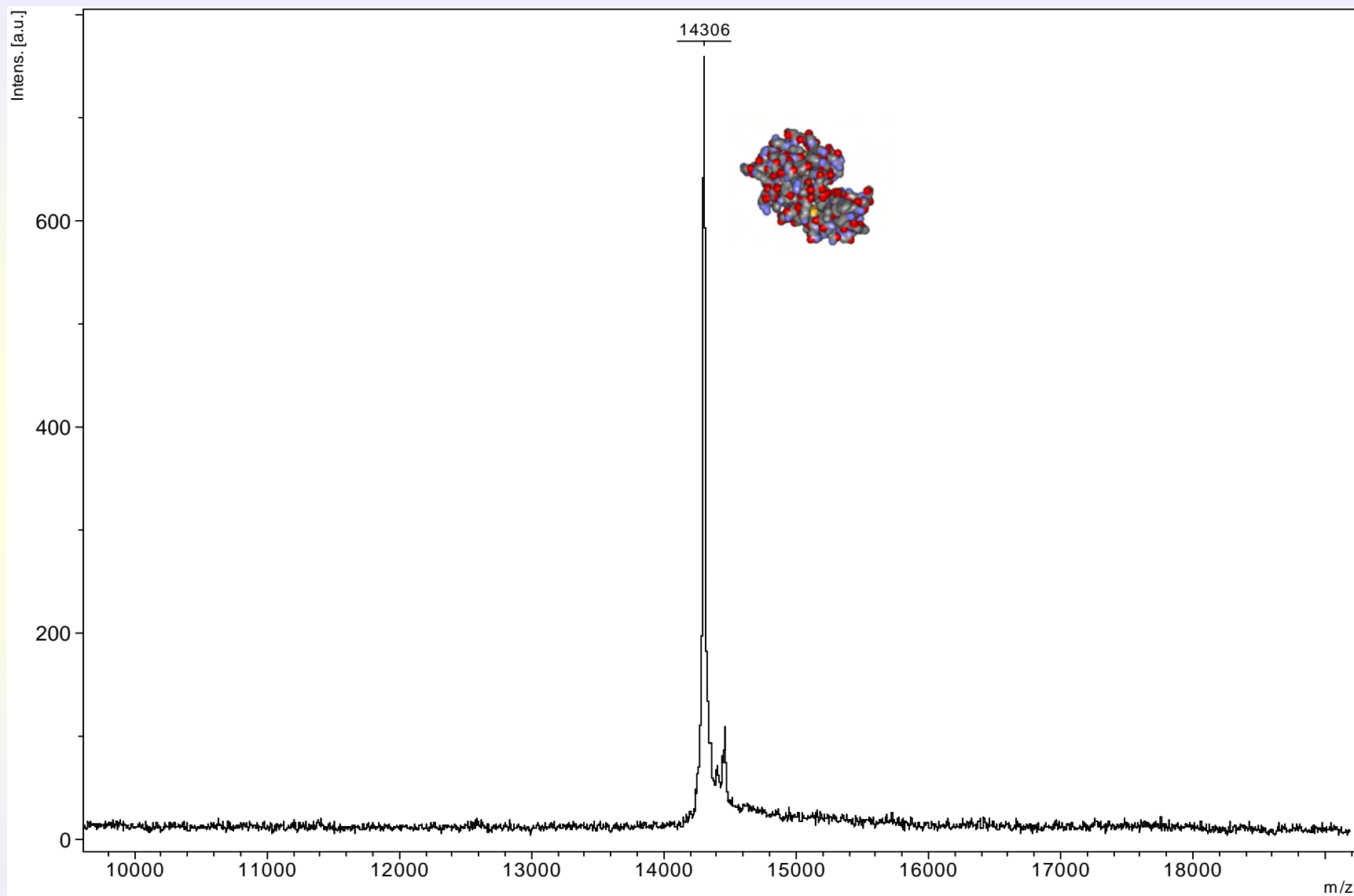
## **3. Rozlišovací schopnosti metody**



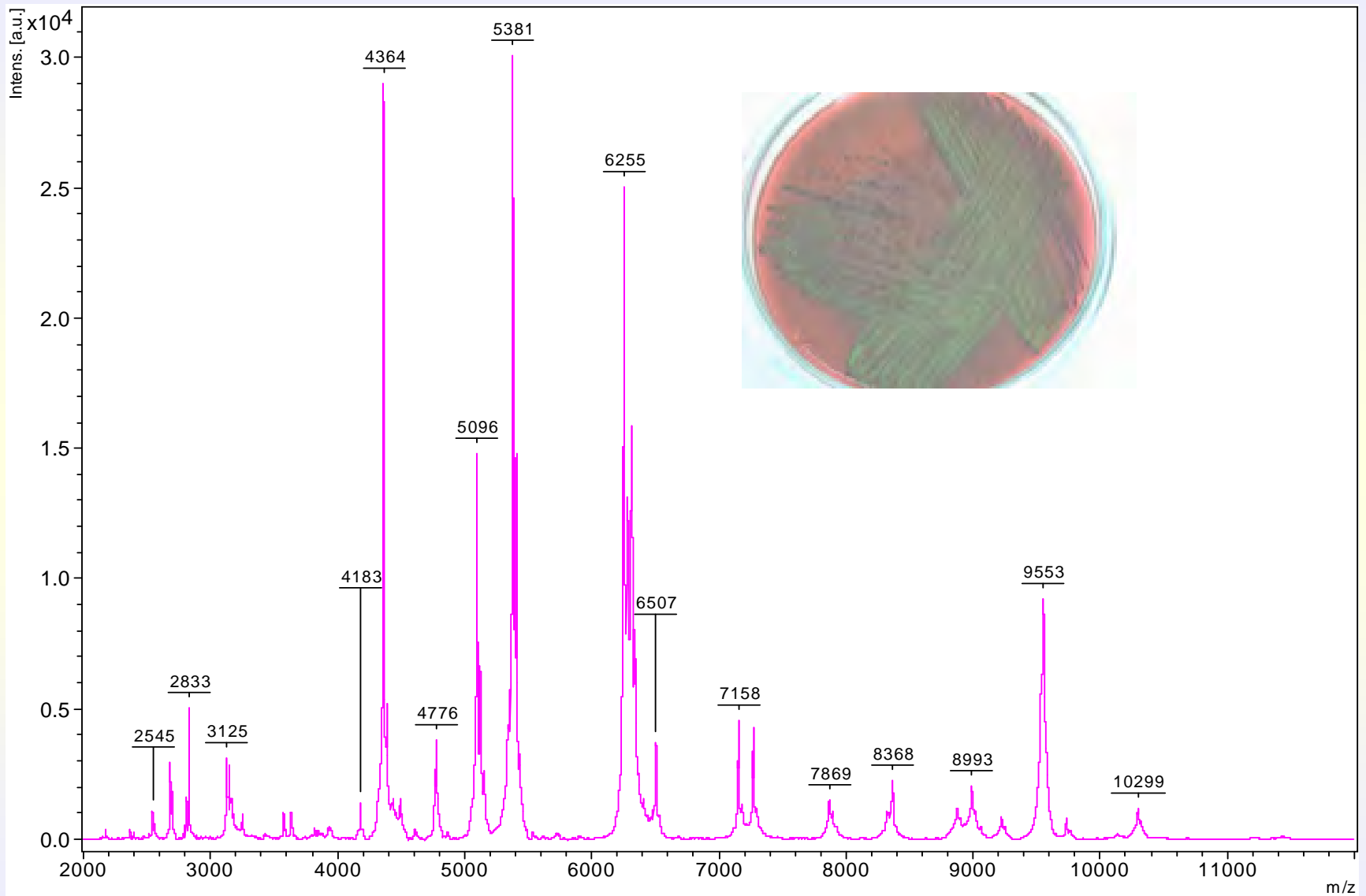
# 1. Princip metody MALDI MS

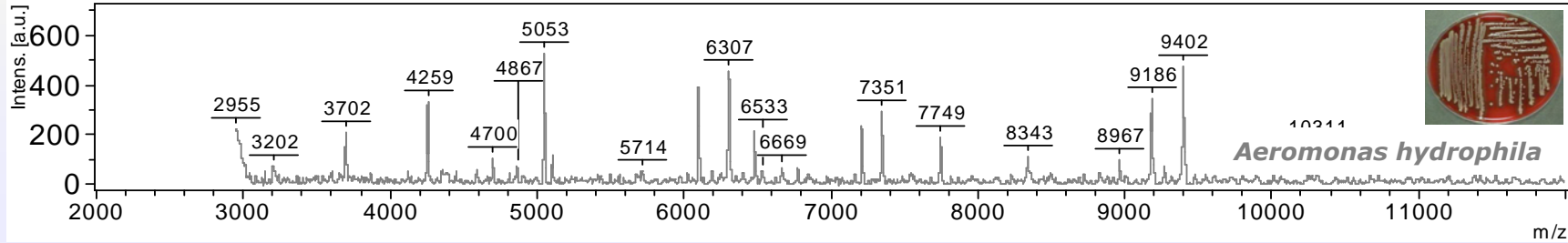
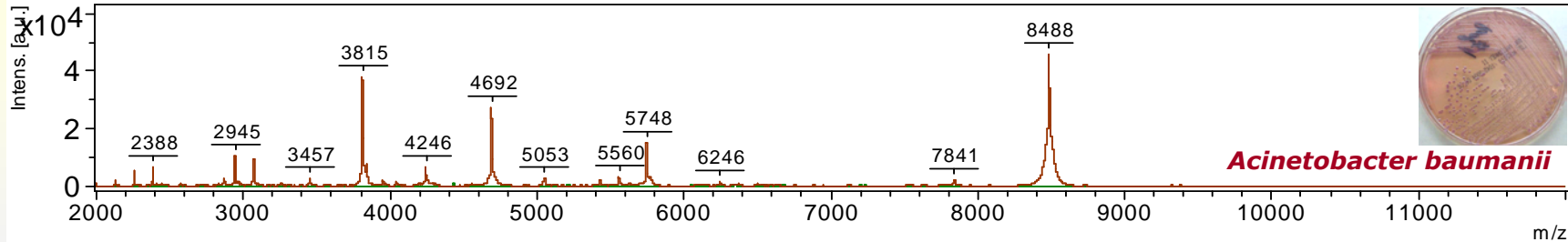
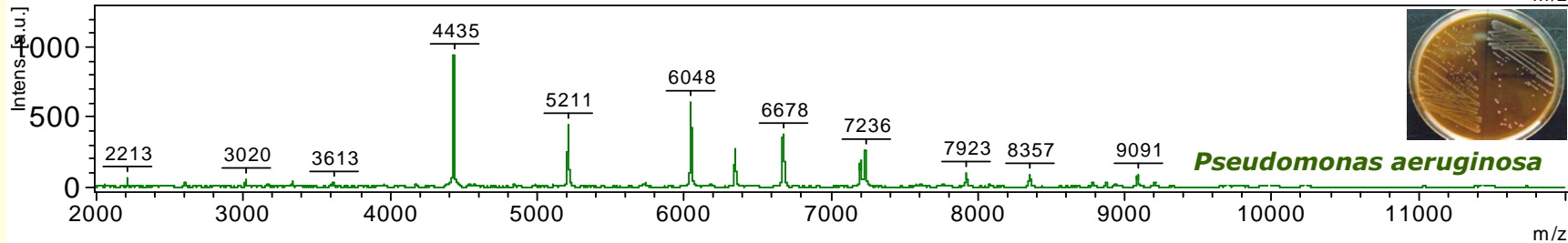
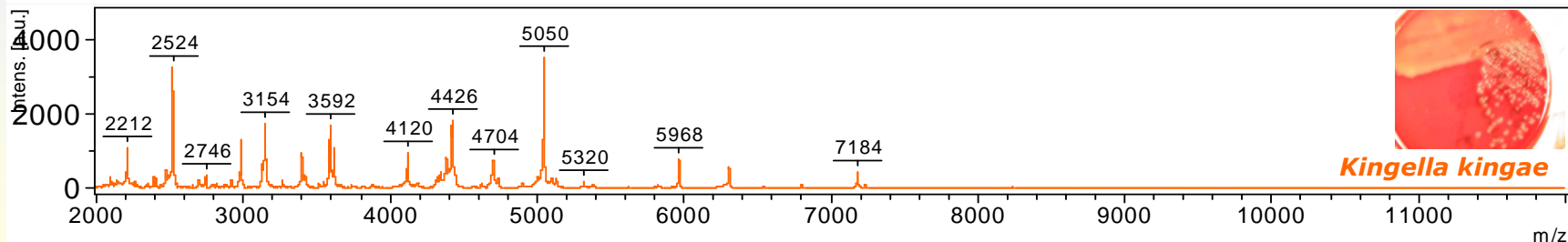
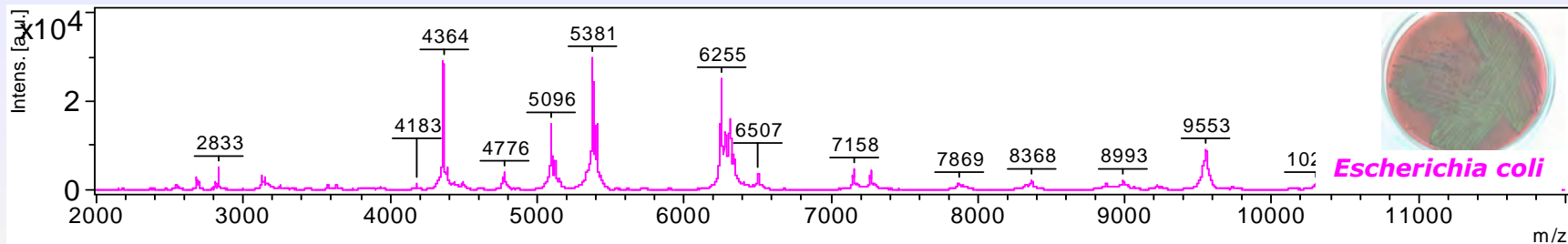


# 1. Princip metody MALDI MS



# 1. Princip metody MALDI MS





# **Identifikace bakterií pomocí MALDI MS**

**1. Princip metody MALDI MS**

**2. Využití v praxi**

**3. Rozlišovací schopnosti metody**



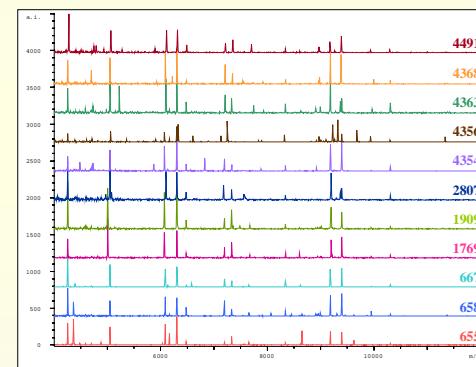
## 2. Využití v praxi

### 1. Hmotnostní spektrometr



### 2. Využití v praxi

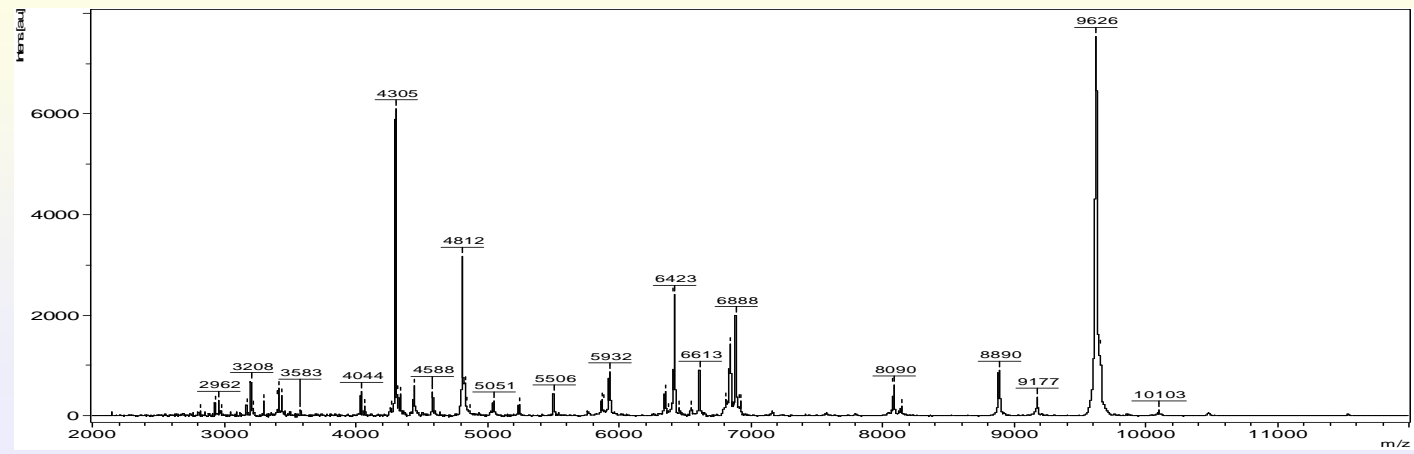
### 2. Databáze hmotnostních spekter referenčních kmenů













### 3. Vyhodnocovací software

Result Overview					
Analyte Name	Analyte ID	Organism (best match)	Score Value	Organism (second best match)	Score Value
EU (+++)	reference	Escherichia coli ATCC 25922	9120	Escherichia coli ATCC 25922 TELL	9106
EU (+++)	Probe 5	Serratia liquefaciens (F70) 21108010_MJD	9108	Serratia marcescens sp. var. marcescens DSM 30121 DSM	9107
EU (+++)	Probe 6	Serratia liquefaciens sp. marcescens DSM 30121 DSM	9107	Serratia liquefaciens (F70) 21108010_MJD	9106
EU (+++)	Probe 6	Morganella morganii sp. morganii 15294_1_CBE	9105	Morganella morganii 9544_1_CBE	9100
EU (+++)	Probe 6	Morganella morganii sp. morganii 15294_1_CBE	9105	Morganella morganii 9544_1_CBE	9100
EU (+++)	Probe 7	Acetabacter sp. Osmogaster 3 Serovar 7 DSM 9588	9100	Acetabacter sp. Osmogaster 3 Serovar 13 DSM 9512	9097
EU (+++)	Probe 7	Acetabacter sp. Osmogaster 3 Serovar 7 DSM 9588	9100	Acetabacter sp. Osmogaster 3 Serovar 13 DSM 9512	9092
EU (+++)	Probe 8	Predecessor var. organa ATCC 27153 TELL	9079	Predecessor var. organa DSM 50111 DSM	9068

# 2. Využití v praxi



## 2. Využití v praxi

Detected Species	Log( Score)
 Staphylococcus haemolyticus 10024 CHB	2.334
 Staphylococcus haemolyticus Mb18803_2 CHB	2.269
 Staphylococcus haemolyticus DSM 20264_DSM	1.936
 Staphylococcus haemolyticus DSM 20228_DSM	1.796
 Staphylococcus haemolyticus DSM 20265_DSM	1.574
 Staphylococcus haemolyticus 19 ESL	1.479
 Staphylococcus simulans DSM 20723	1.234
 Staphylococcus lugdunensis DSM 4804	1.168
 Staphylococcus chromogenes DSM 20454	1.160
 Staphylococcus capitis ssp capitis DSM 6180	1.143

**skóre  $\geq 2,30$**

**Vysoce pravděpodobná identifikace na úrovni druhu**

**$2,30 \geq \text{skóre} \geq 2,00$  Vysoce pravděpodobná identifikace na úrovni rodu,  
pravděpodobná identifikace na úrovni druhu**

**$2,00 \geq \text{skóre} \geq 1,70$  Pravděpodobná identifikace na úrovni rodu**

**$1,69 \geq \text{skóre}$  Nesignifikantní skóre**

## 2. Využití v praxi

Mikroorganismus	MALDI BioTyper identifikace	Biochemické metody identifikace
Nefermentující Gram-negativní bakterie	94%	86%
Enterobacteriaceae	99%	97%
Ostatní Gram-negativní bakterie	96%	91%
Gram-pozitivní bakterie	97%	92%
Kvasinky	97%	97%
<b>Celkem</b>	<b>97%</b>	<b>93%</b>

- 0.61% Identifikace pouze na úrovni rodu (Biochemické metody: 0.52%)
- 1.91% Neidentifikováno (Biochemické metody: 2.34%)
- 0.69% Falešně pozitivní identifikace (Biochemické metody: 4.42%)

## 2. Využití v praxi

### Výhody:

- doba analýzy ~ minuty

- identifikace na úrovni druhu, případně i detailnější

- minimální náklady na analýzu

- identifikace vzorků s abnormálním fenotypem

- možnost identifikace v hemokulturách a v moči

## 2. Využití v praxi

### Nevýhody:

- vysoká pořizovací cena

*- vyplatí se v závislosti na počtu analýz*

- problémy s rozlišením blízce příbuzných druhů

*- změna v metodě přípravy vzorku umožní detekci většího počtu specifických signálů*

- identifikace ze směsných vzorků

*- vývoj nových bioinformatických nástrojů*

# Identifikace bakterií pomocí MALDI MS

1. Princip metody MALDI MS

2. Využití v praxi

3. Rozlišovací schopnosti metody



The background of the slide is a collage of numerous petri dishes, each containing a bacterial culture. The cultures are arranged in a grid-like pattern, with some dishes showing distinct patterns of growth, such as zig-zag lines or dense clusters. The petri dishes are set against a light blue background.

***Aeromonas***  
***Acinetobacter***  
***Achromobacter***  
***Candida***  
***Pseudomonas***  
***Staphylococcus***  
**bakterie mléčného kvašení**

■ ■ ■

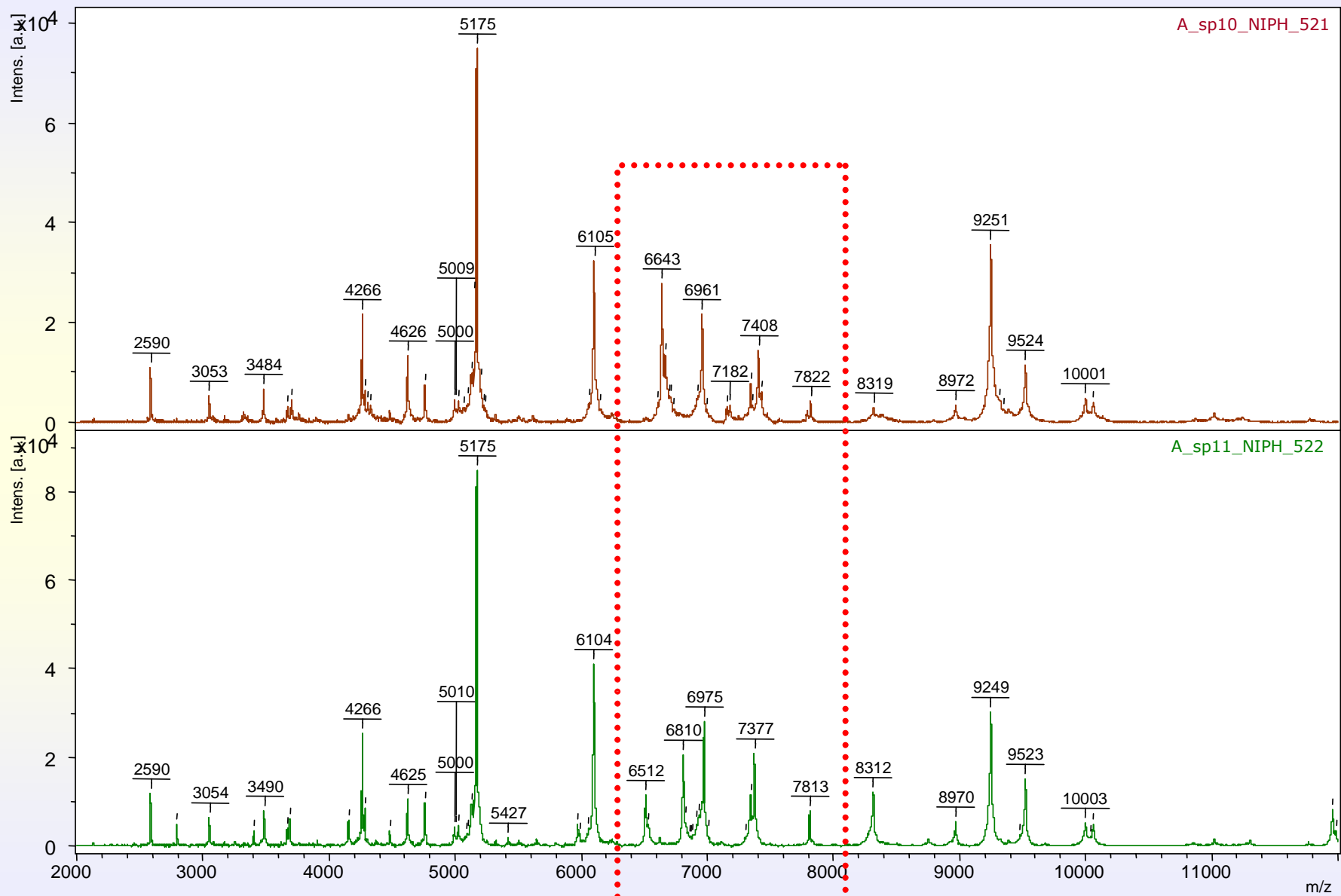


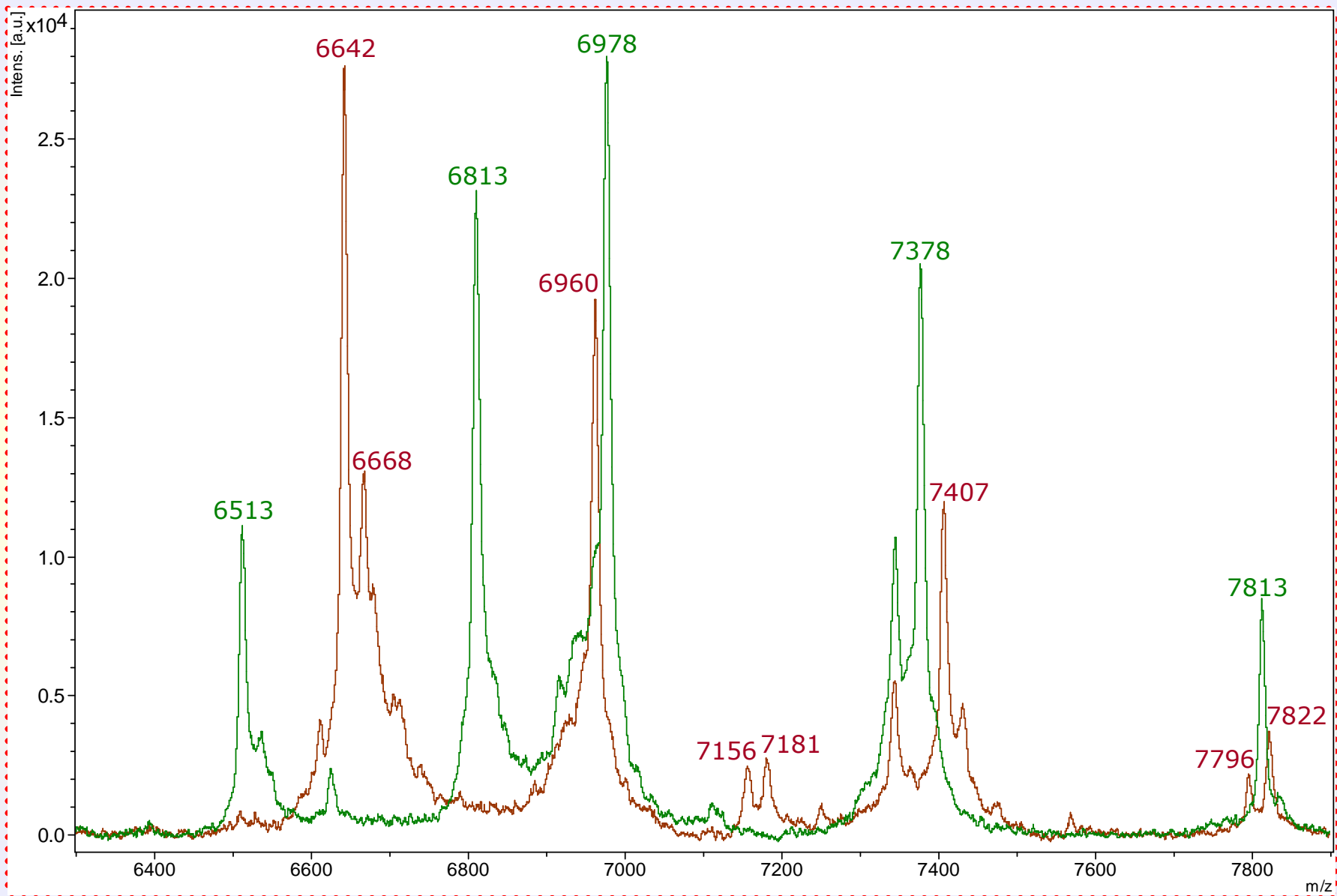


*Acinetobacter genomic sp. 10*



*Acinetobacter genomic sp. 11*



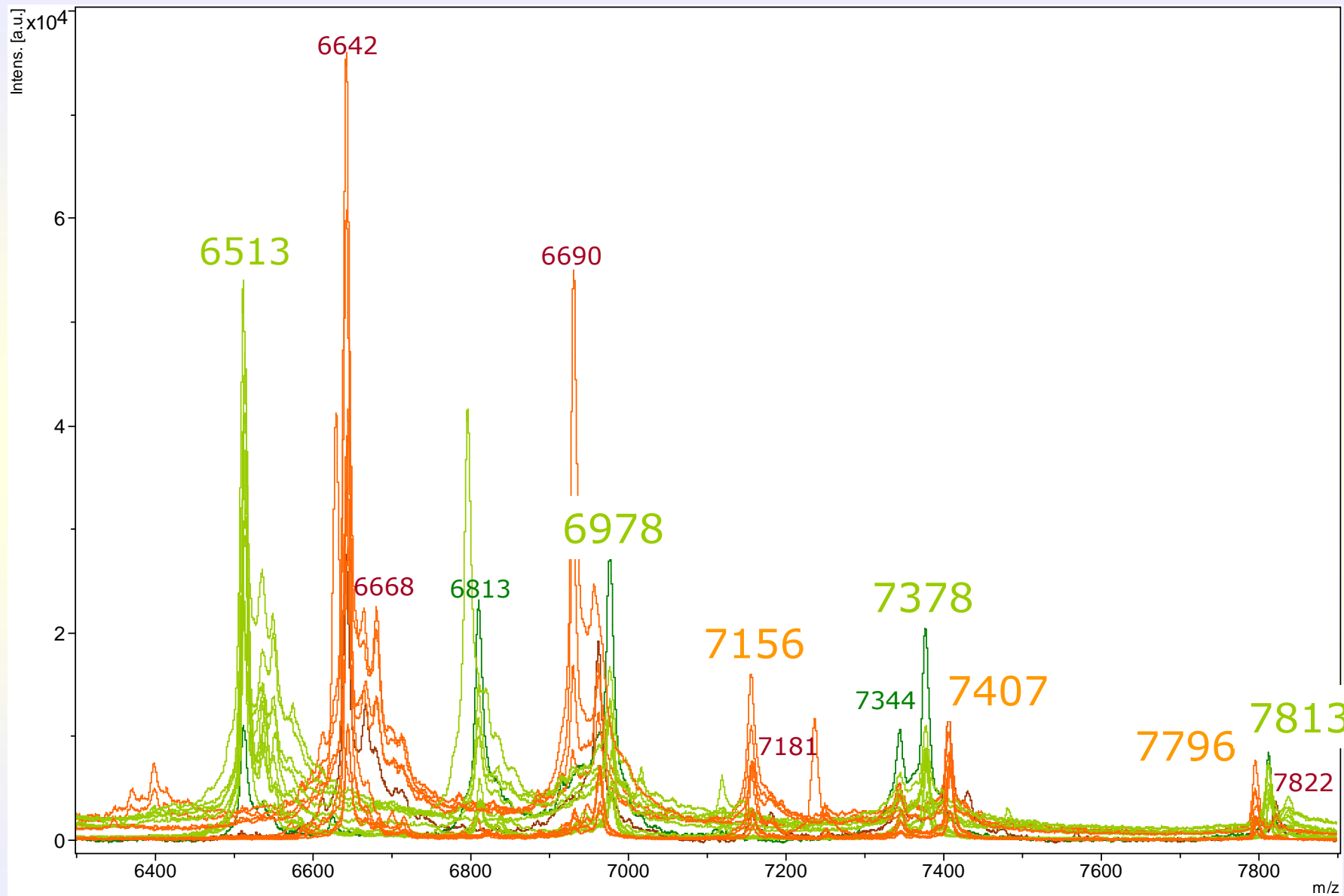


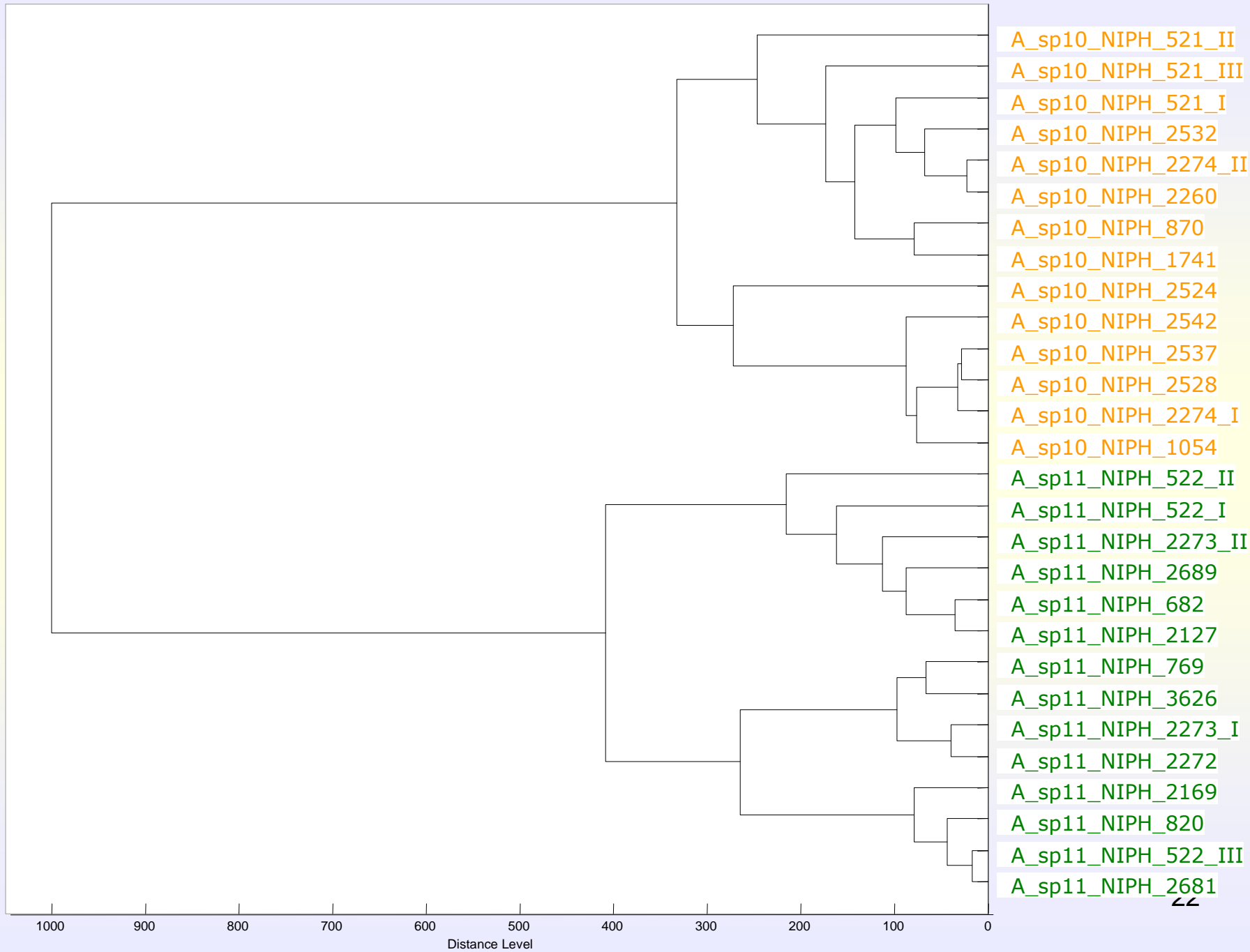


*Acinetobacter genomic sp. 10*



*Acinetobacter genomic sp. 11*







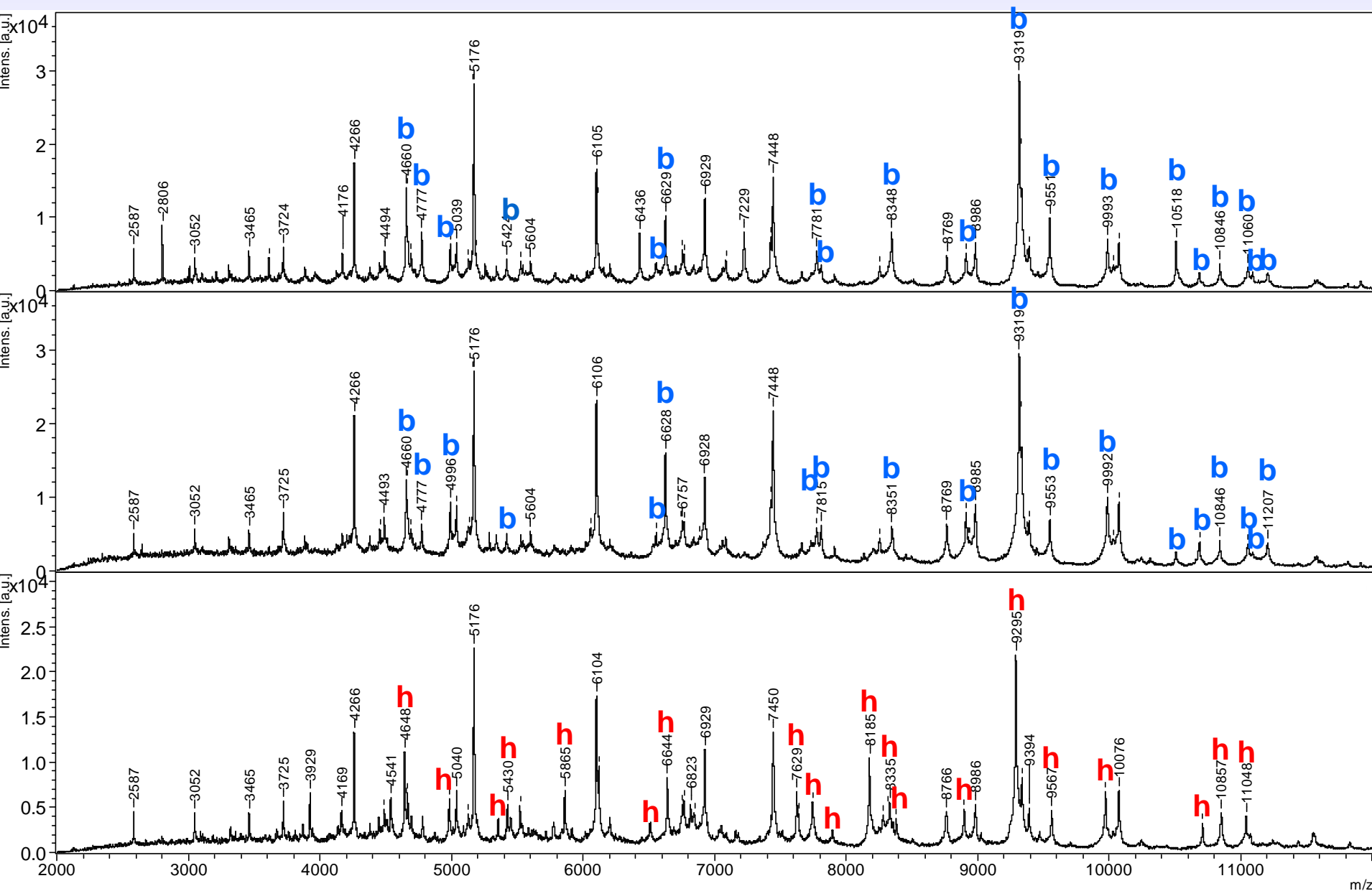
*Acinetobacter haemolyticus* NIPH 510<sup>T</sup>



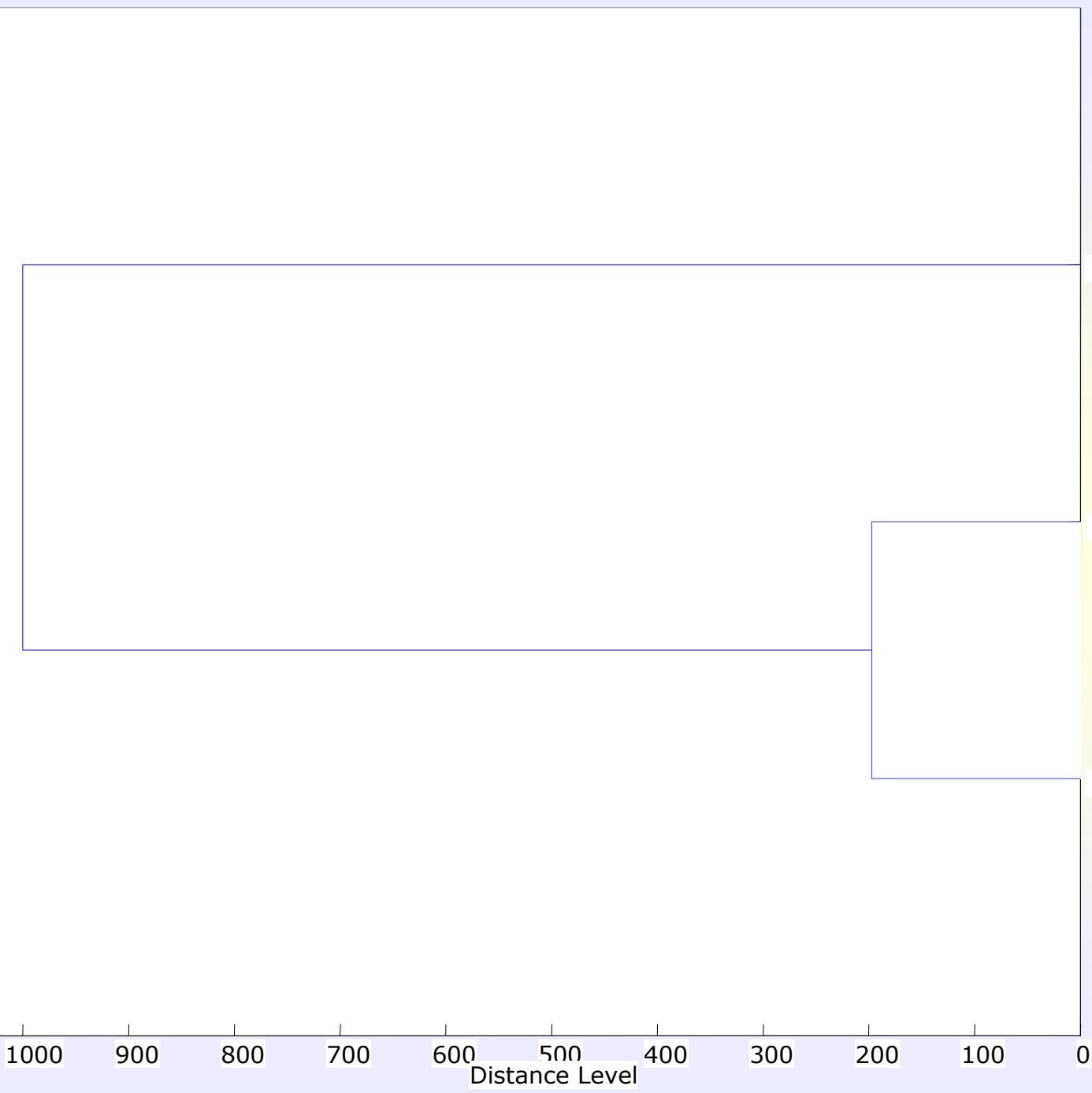
*Acinetobacter beijerinckii* NIPH 838



*Acinetobacter beijerinckii* NIPH 2111



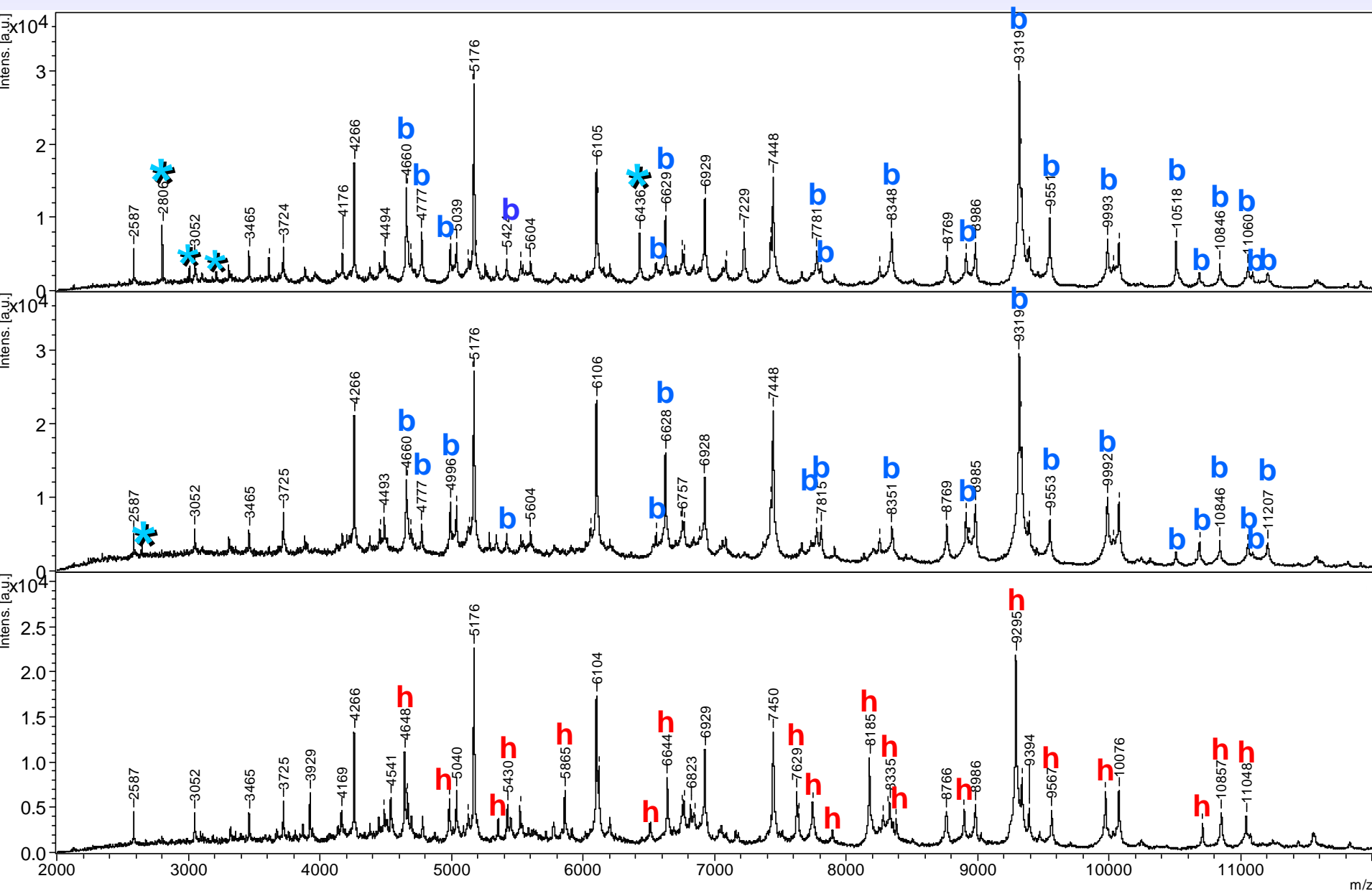




A\_haemolyticus\_NIPH\_510T

A\_beijerinckii\_NIPH\_838

A\_beijerinckii\_NIPH\_2111

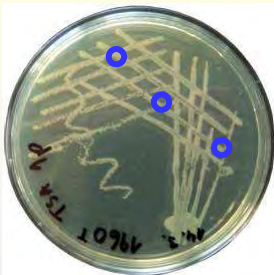




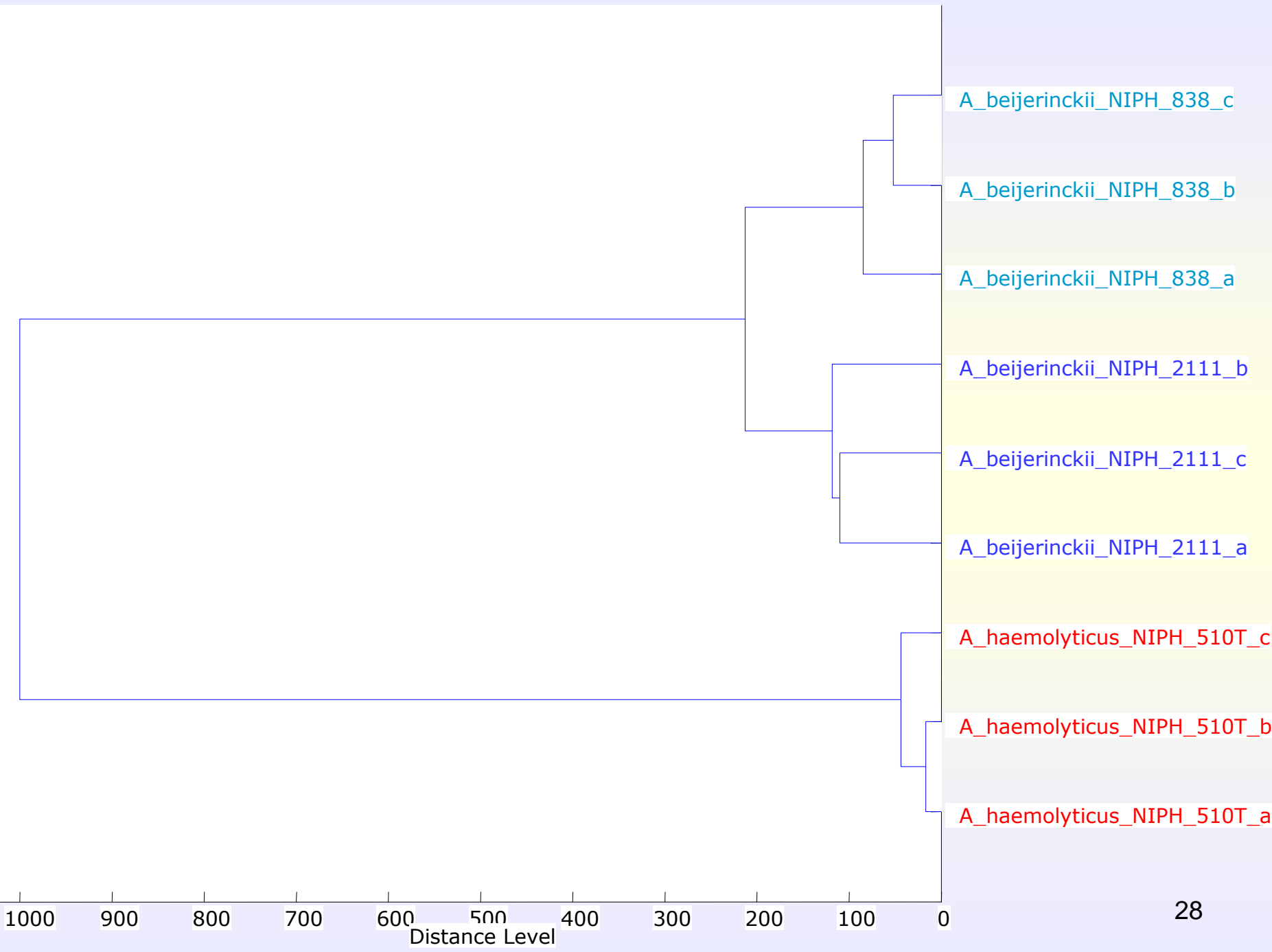
*Acinetobacter haemolyticus* NIPH 510<sup>T</sup>



*Acinetobacter beijerinckii* NIPH 838



*Acinetobacter beijerinckii* NIPH 2111

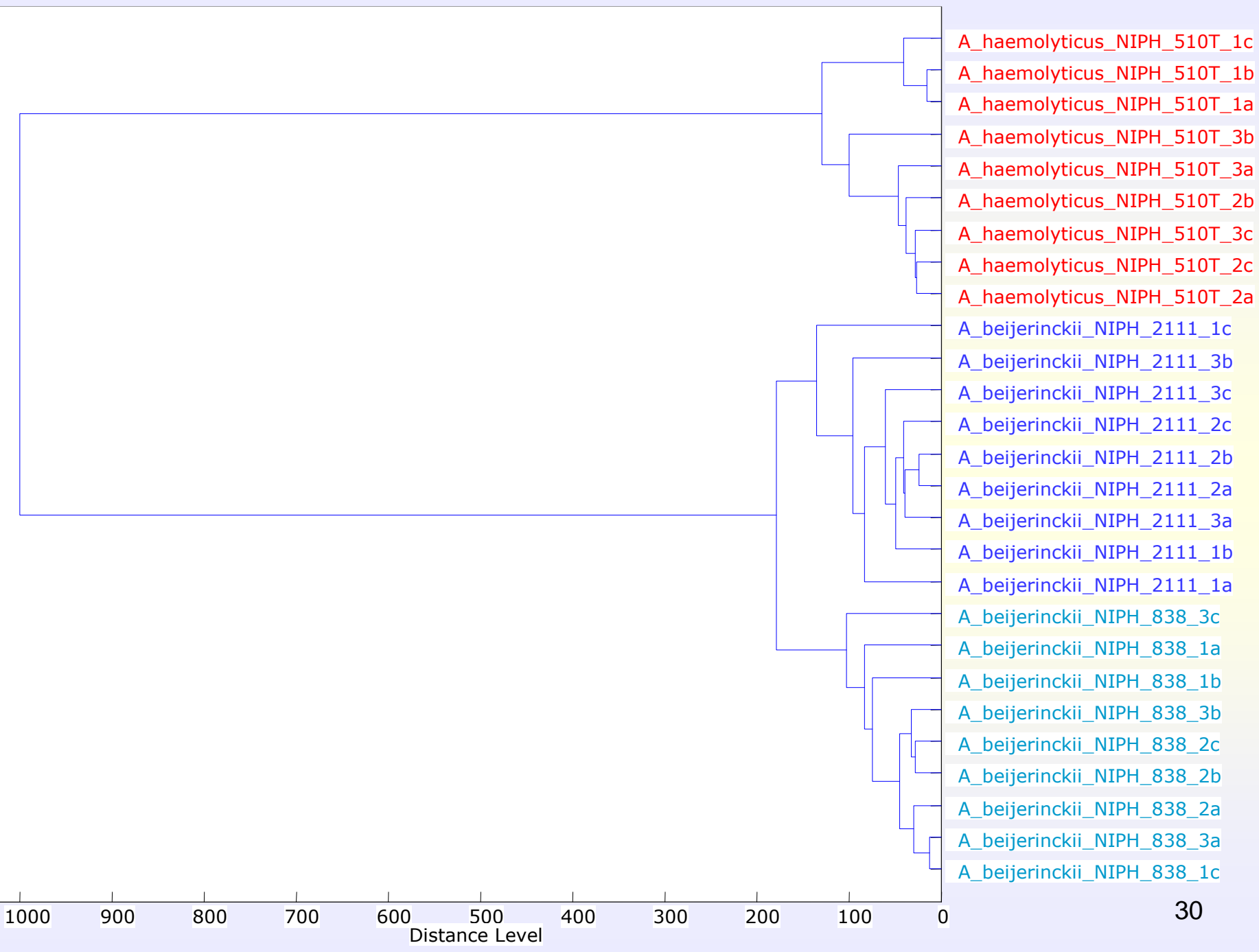




*Acinetobacter haemolyticus* NIPH 510<sup>T</sup>

*Acinetobacter beijerinckii* NIPH 838

*Acinetobacter beijerinckii* NIPH 2111



# Poděkování

## Kultivace kmenů

**Andrea Teshim, Tereza Vaňousová, Ludmila Tvrzová**

*Oddělení mikrobiologie, Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta MU*

**Ivo Sedláček**

*Česká sbírka mikroorganismů, Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta MU*

**Alexandr Nemeč**

*Státní zdravotní ústav*

**Marta Dušková, Renáta Karpíšková**

*Veterinární a farmaceutická univerzita Brno*

**Filip Růžička**

*Fakultní nemocnice U Svaté Anny, Lékařská fakulta MU*

## MALDI MS analýza

**Ondrej Šedo, Aleš Voráč,**

**Magdaléna Kačalová, Zbyněk Zdráhal**

*Oddělení funkční genomiky a proteomiky, Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta MU*

## Zpracování dat

**Thomas Meier, Markus Kostrzewa, Michal Boháč**

*postup I Daltonik*

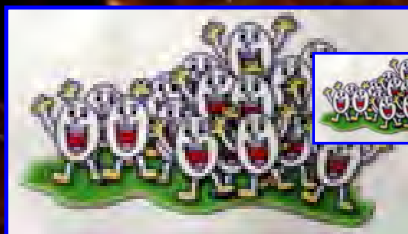
**Matej Lexa**

*Katedra informačních technologií, Fakulta informatiky MU*

## Finanční podpora

*Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy, projekty č. MSM0021622415, MSM0021622416 and LC06034.*

**Děkuji za pozornost !**



= *Přátelské bakterie !*

