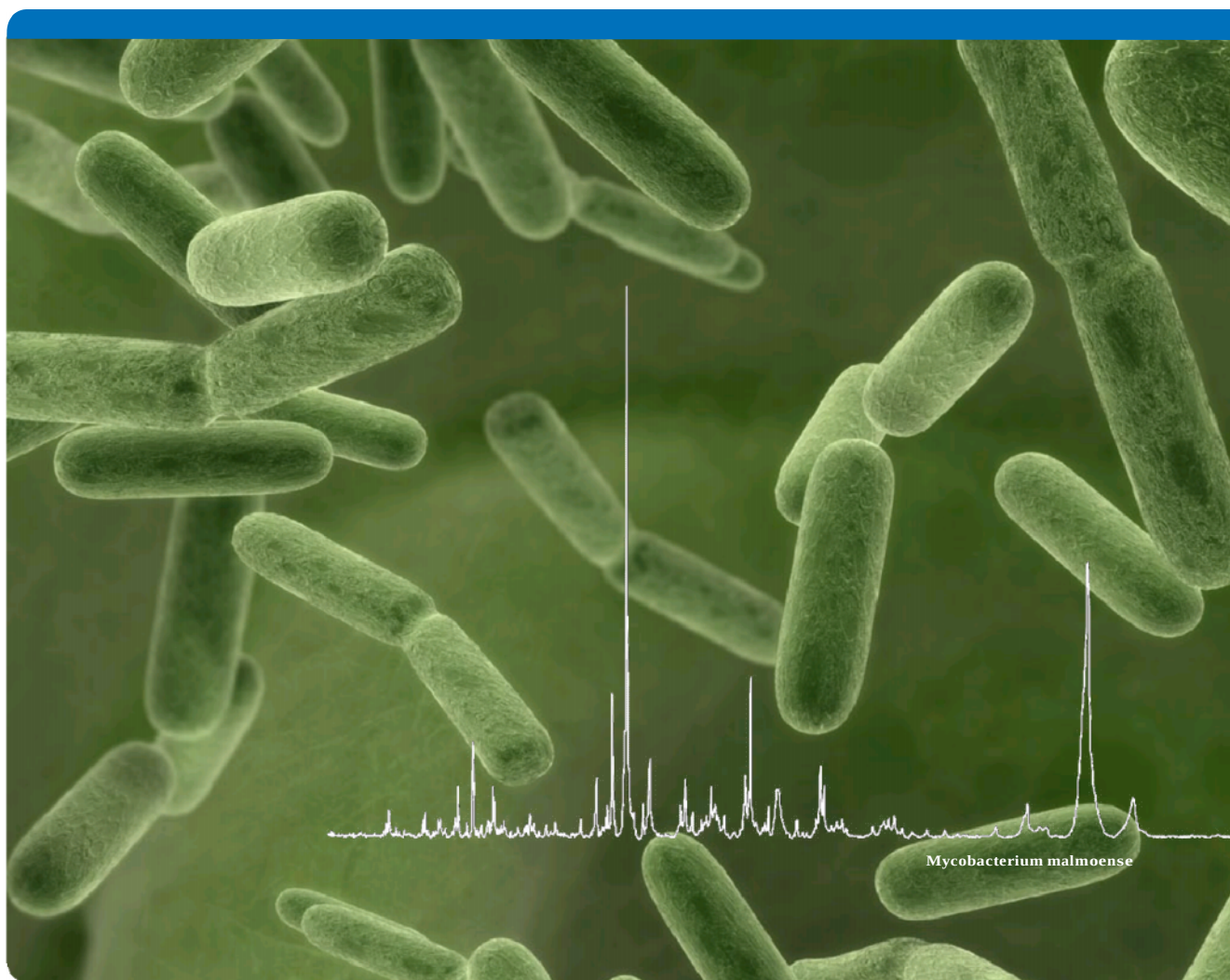




Библиотека микобактерий

● MALDI Biotyper

Инновация и интеграция

MALDI-TOF MS

Создание библиотеки видов *Микобактерий*



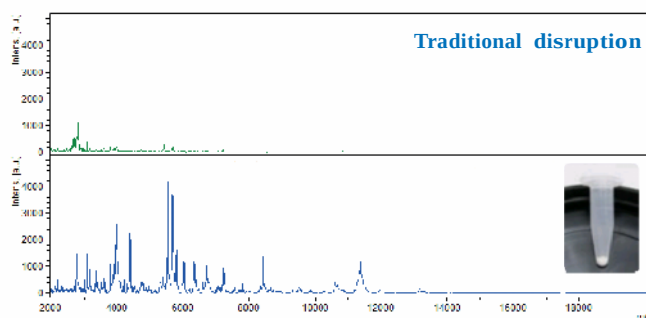
Следующими по клинической значимости после комплексов *Mycobacterium tuberculosis* (МТК) являются нетуберкулезные микобактерии (НТМ), являющиеся особо опасными для пожилых людей и людей с ослабленным иммунитетом. Поэтому видовая идентификация так важна для постановки диагноза и назначения лечения. Стандартная методика идентификация микобактерий с помощью MALDI-TOF, с использованием метода рутинной экстракции и прямого нанесения, дает спектры низкого качества и небезопасна. Поэтому метод инактивации и пробоподготовки микобактерий был оптимизирован за счет использования силикатных шариков, что повышает уровень качества спектров и обеспечивает воспроизводимую идентификацию на уровне «до вида». Этот же метод был использован для создания библиотеки.

Оптимизированный метод с использованием силикатных шариков

- Осадить биомассу микобактерий из 75% этанола
- Этап отмывки, 500 мкл воды
- Растворить осадок в мкл воды, инкубировать 30 мин 95C.
- Добавить 1,2 мл охлажденного этанола
- Центрифугировать, супернатант слить
- Растворить сухой осадок в ацетонитриле
- Добавить силикатные шарики (0.5 mm)
- Вortexировать в течение 1 мин
- Добавить 70% муравьиную кислоту
- Вortexировать 10 сек
- Центрифугировать
- Нанести 1 мкл супернатанта на MALDI мишень

Как видно, из двух различных методов экстракции, только метод выделения с силикатными шариками позволяет получение масс - спектров высокого качества. Таким образом, мы видим, что оптимизированная методика для инактивации и подготовки образцов с использованием силикатных шариков, способствует получению высококачественных масс – спектров всех видов микобактерий, пригодных для включения в библиотеку.

Mass Spectra of *Mycobacterium gastr* DSM 44505[†]

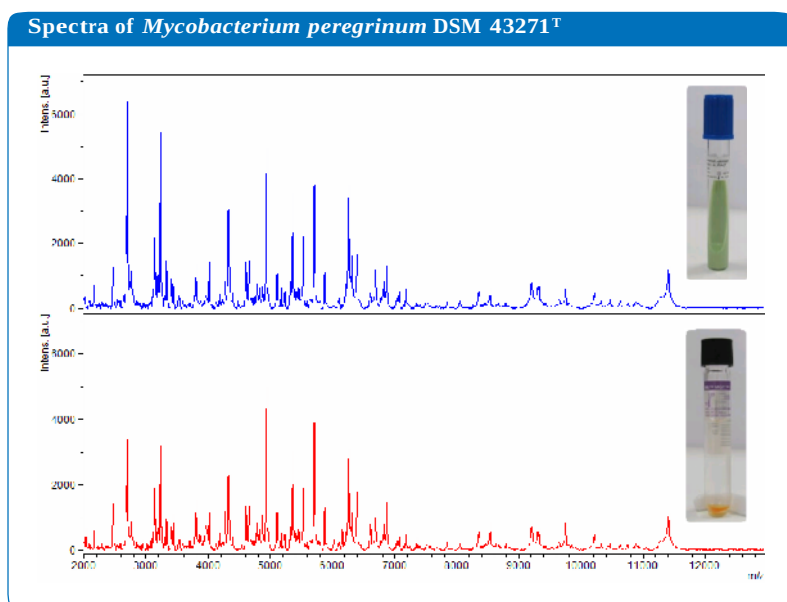


Одна библиотека - Допустимость двух методов культивирования

Как видно на данном изображении, можно анализировать образцы выращенные как на жидкой среде среде BACTEC™ MGIT™ (Becton Dickinson Company)) так и на среде Löwenstein-Jensen.

Возможна MALDI-TOF идентификация *Mycobacterium* sp. с использованием всего 1 мл культуральной среды BACTEC™ MGIT™.

Рисунок 1: Спектр *Mycobacterium peregrinum* DSM 43271^T, выращенной на среде Löwenstein-Jensen (сверху) и в пробирках MGIT™ (снизу), полученный с использованием методики "экстракция Микобактерий на шариках".

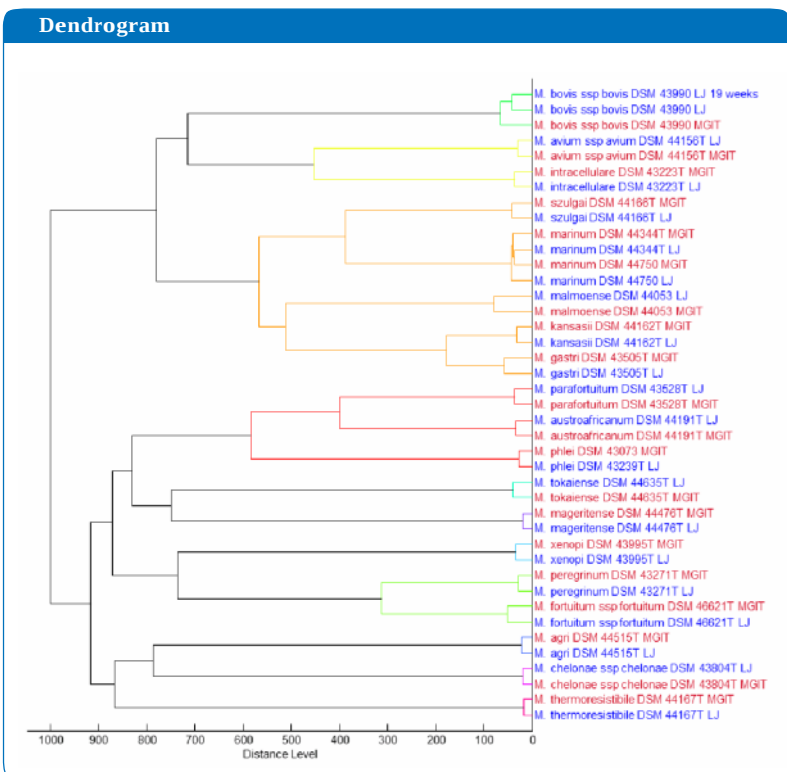


Международное объединение специалистов по микобактериям

В первую очередь целью данного объединения была разработка и отлаживание методики экстракции, которая бы работала для культур выращенных как на жидкой так и на твердой средах, а так же обеспечивала бы безопасную инактивацию микобактерий. В том числе целью было получение надежных результатов по идентификации подвидов микобактерий, для создания на их основе библиотеки.

Нынешние данные были получены от 17 лабораторий из 9 стран с целью максимально дополнить библиотеку данными по видам и подвидам микобактерий.

Рисунок 2: Дендрограмма из 19 различных видов микобактерий, выращенных на среде Lowenstein-Jensen (голубые) и в пробирках MGIT™ (красные), демонстрирует, что схожие виды всегда идут в одном кластере и хорошо различаются с другими видами.



Библиотека микобактерий



Проф. Док. Dag Harmsen глава пародонтологических клиник R&D, WWU Münster

“Как было показано, MALDI-TOF масс-спектрометрия имеет большое клиническое значение, за счет быстрой видовой идентификации и очень широкого спектра определяемых микроорганизмов. Тем не менее, эта технология была не до конца отработана для такой сложной процедуры, как анализ микобактерий. В последние годы я принимал активное участие в описании микобактерий с точки зрения молекулярной биологии, в том числе с помощью секвенирования. Я очень рад, что сейчас с помощью новой библиотеки микобактерий MALDI-Biotyper фирмы Bruker, возможно дальнейшее описание молекулярной биологии микобактерий за счет протеомной дактилоскопии.”

Библиотека микобактерий

Первая версия библиотеки микобактерий содержала более 90 видов микобактерий и будет продолжать дополняться данными как по видовому разнообразию, так и по подвидам.

Библиотека микобактерий

M. abscessus ssp abscessus	M. colombiense	M. intermedium	M. pseudoshottsii
M. abscessus ssp bolletii	M. conceptionense	M. intracellulare	M. pulveris
M. agri	M. confluentis	M. kansasii	M. rhodesiae
M. alvei	M. conspicuum	M. kumamotonense	M. saskatchewanense
M. arosiense	M. cosmeticum	M. lacus	M. scrofulaceum
M. arupense	M. diernhoferi	M. lentiflavum	M. senegalense
M. asiaticum	M. elephantis	M. mageritense	M. senuense
M. aurum	M. farcinogenes	M. malmoense	M. seoulense
M. austroafricanum	M. florentinum	M. mantenii	M. septicum
M. avium subsp. avium	M. fortuitum subsp. acetamidolyticum	M. marinum	M. setense
M. avium subsp. paratuberculosis	M. fortuitum subsp. fortuitum	M. monacense	M. shimoidei
M. avium subsp. silvaticum	M. gastri	M. montefiorensense	M. shottsii
M. boenickei	M. gilvum	M. mucogenicum	M. simiae
M. bohemicum	M. goodii	M. neoaurum	M. smegmatis
M. botniense	M. gordonae	M. neworleansense	M. szulgai
M. bovis	M. haemophilum	M. nonchromogenicum	M. thermoresistibile
M. branderi	M. hassiacum	M. novocastrense	M. tokaiense
M. brumae	M. heckeshornense	M. parafortuitum	M. triplex
M. brisbanense	M. heidelbergense	M. parascrofulaceum	M. tuberculosis
M. canariense	M. hiberniae	M. paraseoulense	M. vaccae
M. celatum	M. hodleri	M. parmense	M. wolinskyi
M. chelonae subsp. chelonae	M. houstonense	M. peregrinum	M. xenopi
M. chimaera	M. immunogenum	M. phlei	
M. chitae	M. insubricum	M. phocaicum	
M. chlorophenicum	M. interjectum	M. porcinum	

For research use only. Not for use in diagnostic procedures.

Order information: Mycobacterium Library 1.0 – #700279



Bruker Daltonik GmbH

Bremen · Germany
Phone +49 (0)421-2205-0
Fax +49 (0)421-2205-103
sales@bdal.de

Bruker Daltonics Inc.

Billerica, MA · USA
Phone +1 (978) 663-3660
Fax +1 (978) 667-5993
ms-sales@bdal.com

Fremont, CA · USA
Phone +1 (510) 683-4300
Fax +1 (510) 490-6586
ms-sales@bdal.com

www.bruker.com/maldbiotyper