

Metoda: MALDI TOF

Adéla Vávrová, Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví, 2. ročník

Školitelé: Václava Svozilová

Princip: Principem metody je stanovení molekulové hmotnosti zkoumaného vzorku ionizací laserem za přítomnosti matrice v kombinaci s detekcí doby letu.

Metoda je velmi šetrná, dochází k tvorbě iontů bez fragmentace molekul. Působením matrice probíhá ionizace vzorku, která zaručuje kontakt mezi analyzovanou molekulou a laserem. Matrice také absorbuje energii dodanou laserem. Excitované molekuly následně ionizují vzorek přenosem protonu za vzniku pseudomolekulového iontu. Ionty jsou následně na krátkou vzdálenost zrychleny silným elektrickým polem a vstupují do vakua v detektoru, kde se pohybují rychlostí úměrnou jejich náboji a hmotnosti.

Analyzátor změří čas, který je potřebný k tomu, aby ionty dosáhly detektoru, ale měří i čas průletu.

Hodnoty, které získáme měřením, se převádí na poměr molekulové hmotnosti a náboje.

Uplatnění metody: Metoda se hlavně využívá pro bakteriální kultury, kdy po rozočkování vzorku na kultivační půdě a kultivací vzorku vznikne na agaru čistá kolonie. Právě ta čistá kolonie se rozpustí v roztoku a vkládá se do přístroje. Už za 24 hodin dojde k určení patogenu. Metoda se začíná využívat běžně ve velkých mikrobiologických laboratořích.

Úskalí metody: Mezi nevýhody metody patří vysoká pořizovací cena a vysoké náklady, vzorek musí být pouze čistá kolonie bez příměsi jiných kolonií, občas je komplikované rozeznat příbuzné druhy bakterií a směsí kultur.

Přístrojové vybavení: Spektrometr IVD MALDI Biotyper System, počítač

Odběr a transport:

Obecné zásady:

Všechen biologický materiál musíme považovat za potencionálně infekční. Vnější strana zkumavky a ani žádanka nesmí být znečištěná biologickým materiálem, který byl odebrán pacientovi. Vzorky od pacientů s virovým onemocněním nebo nozokomiální nákazou musí být viditelně označeny.

Vzorky jsou transportovány v uzavřených zkumavkách v transportní boxu tak, aby nemohlo dojít k vylití nebo znečištění biologickým materiálem, nebo k jinému znehodnocení vzorku. Vnitřní plochy transportního boxu musí být pravidelně dezinfikovány. Použité materiály při odběru se považují jako infekční a likvidují se podle předpisů.

Hlavní zásady odběru:

Odběr musí být proveden ve správný čas, nejlépe před začátkem antibiotické léčby. Odběr musí být proveden ze správného místa. Materiál musí být odebrán do sterilních zkumavek. Odběrové nádoby musí být správně a zřetelně označeny.

Obecné podmínky transportu:

Transport materiálu k vyšetření by měl být co nejrychlejší.

Svoz od externích doktorů má být provedený tak, aby byly dodrženy všechny časové limity. I sebemenší zdržení snižuje možnost správné diagnostiky, hlavně u bakterií náročných na kultivaci. Materiál, který může zaschnout, je nejlepší transportovat ve fyziologickém roztoku či v bujONU.

Při extrémních teplotách je podstatné zajistit transport vzorků v boxech zamezující znehodnocení vzorků teplem nebo mrazem.