

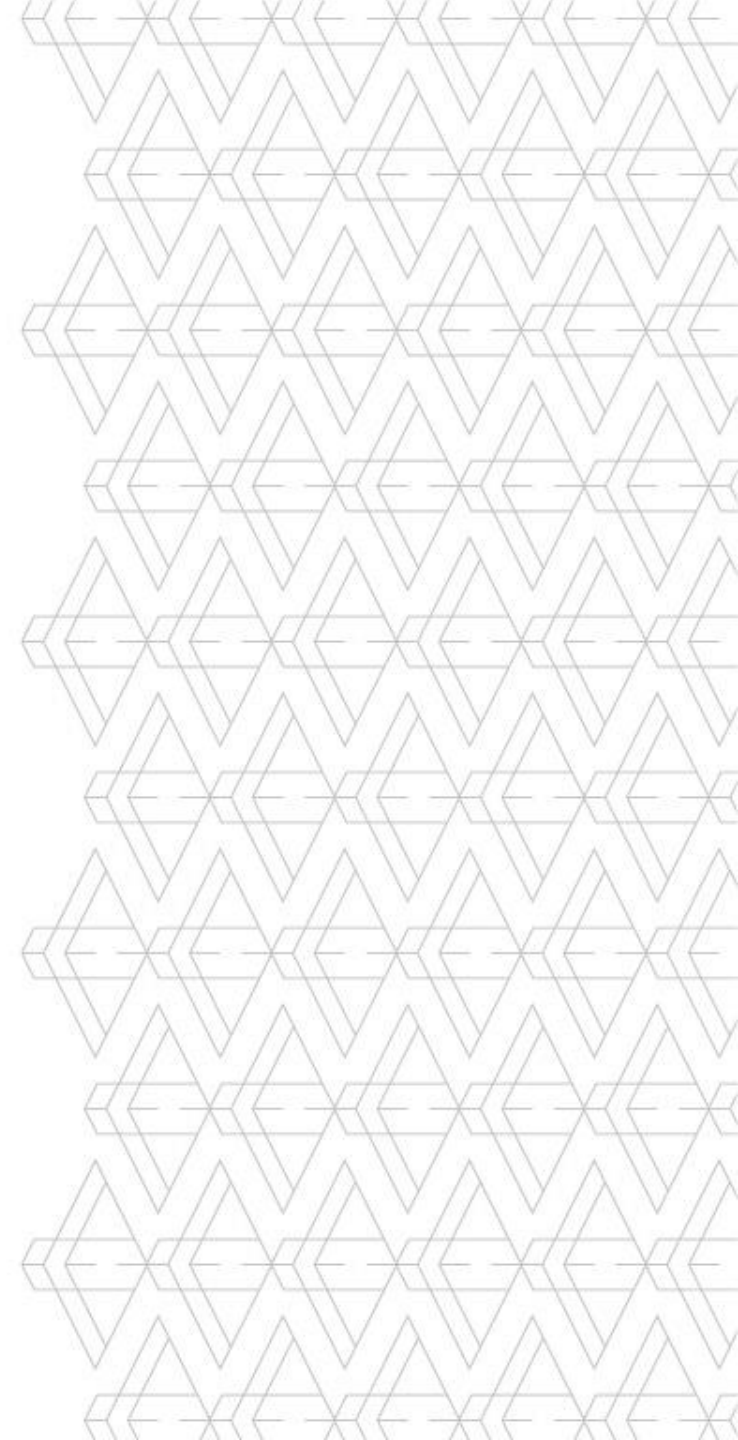


ARGENTA

Automatyczne metody identyfikacji drobnoustrojów – Autof MS2600

Klaudia Zięba

Specjalista ds. Aplikacji



Metody identyfikacji bakterii

Konwencjonalna

Zalety: tania i intuicyjna
Wady: większy subiektywny wpływ użytkownika



Spektrometria mas



Metody biochemiczne

Zalety: wynik identyfikacji jest względnie dokładny
Wady: długi czas oczekiwania na wynik, ograniczona baza danych

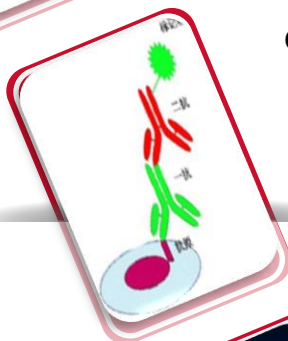
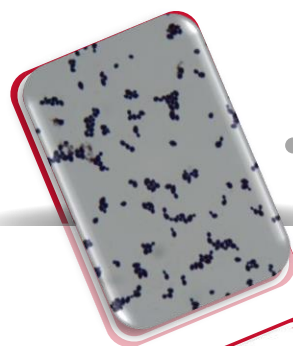


Metody immunologiczne

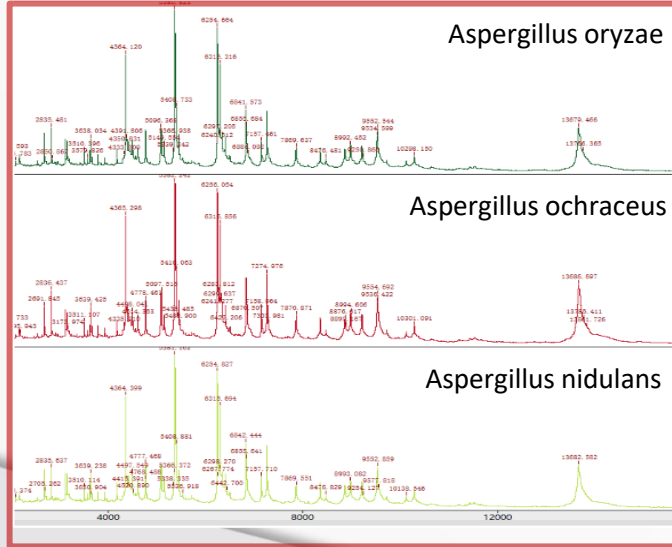
Zalety: szybka identyfikacja oraz wysoka czułość
Wady: ograniczona liczba możliwych do zidentyfikowania bakterii

Metody molekularne - sekwencjonowanie

Zalety: dokładna identyfikacja
Wady: długi czas trwania oraz wysokie koszty



Autof MS1000/ MALDI-TOF MS





Autof MS2600



Rozmiar płytki	96 miejsc
Czas analizy	13 min
Zakres mas	1 - 500 kDa
Baza danych	>5053 gatunków
Próżnia	Do 10^{-7} mbar
Laser azotowy	355nm
Max częstotliwość impulsów	60Hz
Kolumna	1,05m
Waga	110kg



ARGENTA



Autof MS2600

Wbudowana pompa próżni wstępnej

*Spektrometria masowa kwasów nukleinowych

*Analiza oporności drobnoustrojów

Analiza kationów i anionów – badanie węglowodanów, lipidów

Zwiększona przepustowość przez zastosowanie lasera ciała stałego



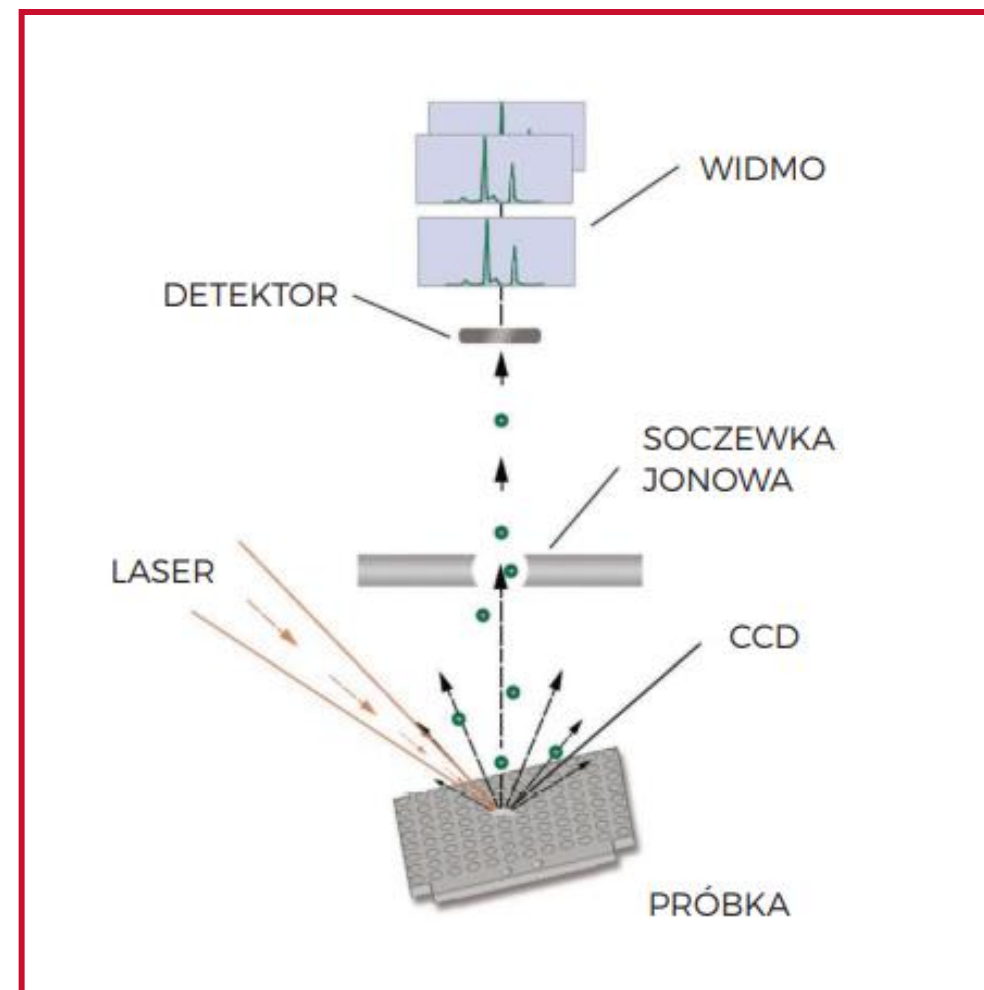
ARGENTA

Zasada metody

MALDI-TOF

ang. **M**atrix-**A**ssisted **L**aser **D**esorption/**I**onization
-Time **O**f **F**light

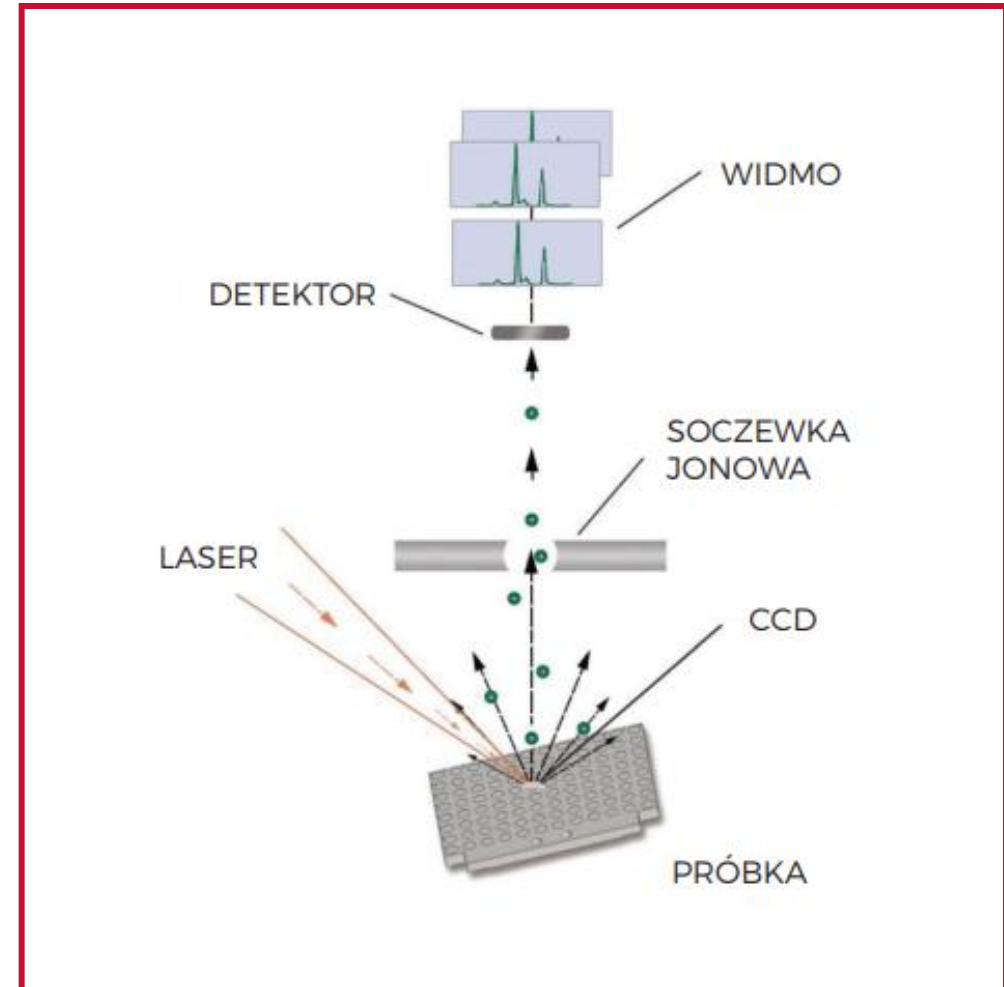
- Naniesienie próbki wraz z matrycą na odpowiednią pozycję na płytce.
- Jonizacja próbki za pomocą lasera.
- Uzyskanie energii kinetycznej przez jony zapewniającej przelot przez kolumnę do detektora.



ARGENTA

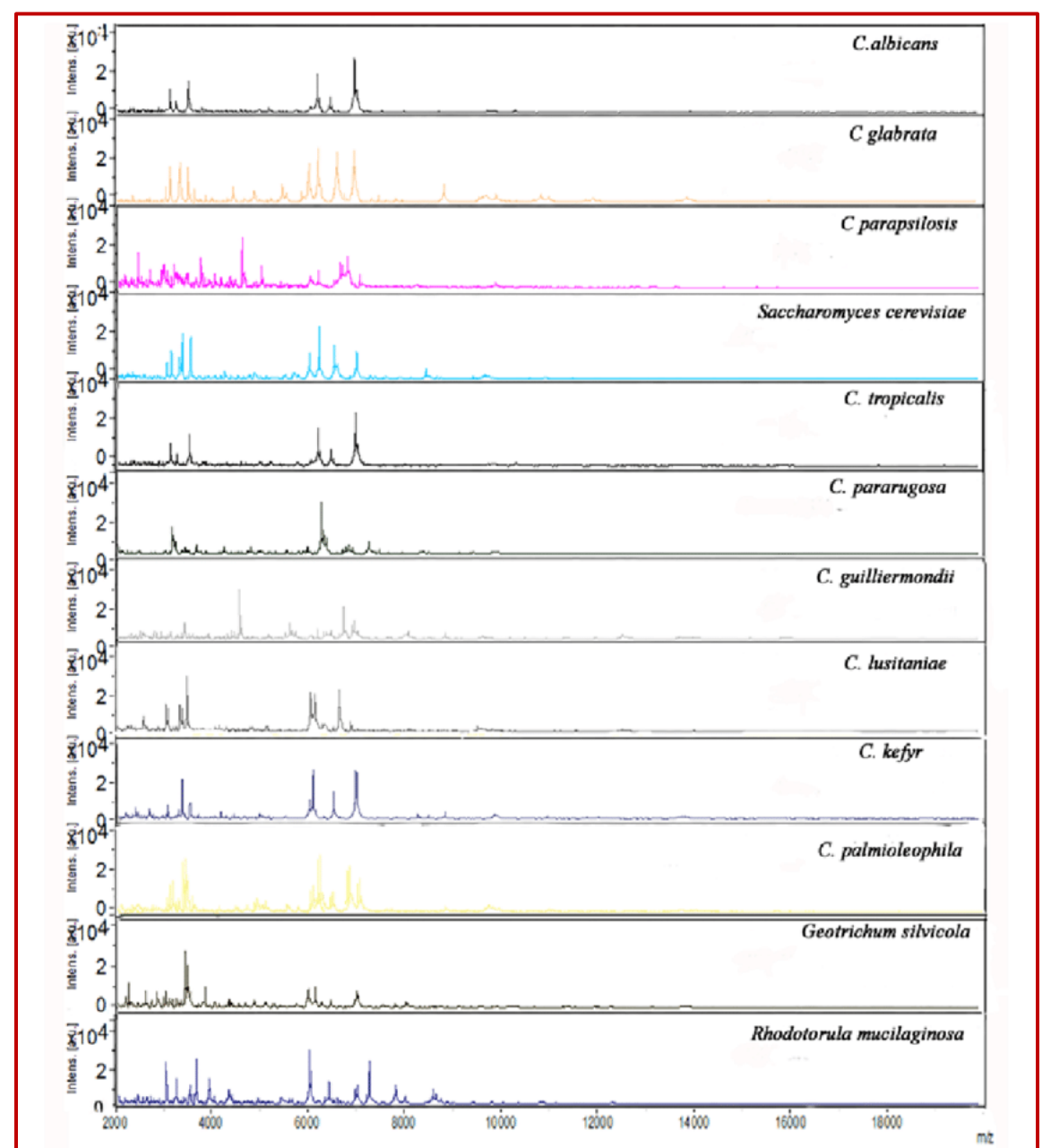
Zasada działania

- W aparacie zjonizowane cząstki próbki przemieszczają się trafiając w pole elektromagnetyczne spektrometru gdzie są zliczane, rozdzielane na podstawie stosunku masy do ładunku oraz gdzie mierzony jest ich czas przelotu przez urządzenie rejestrujące. Czas przelotu zależy od prędkości, która z kolei zależy od masy
- Pozwala to na wykreślenie widma porównywanego przez urządzenie z widmami wzorcowymi



Zasada MALDI-TOF MS

- Analizowany jest unikalny dla każdego gatunku drobnoustroju profil białek rybosomalnych, które są molekularnym odbiciem genotypu
- W wyniku analizy uzyskuje się widmo rozkładu mas, które jest charakterystyczne dla każdego drobnoustroju bakterii, grzybów pleśniowych i drożdżopodobnych podobnie jak linie papilarne u ludzi
- Poprzez porównanie zebranego widma z widmami w bibliotece aparatu otrzymuje się identyfikację drobnoustroju

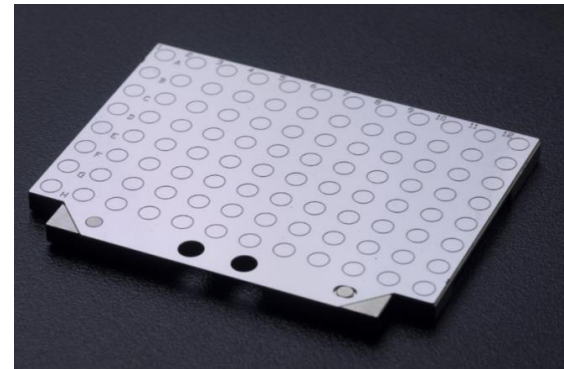
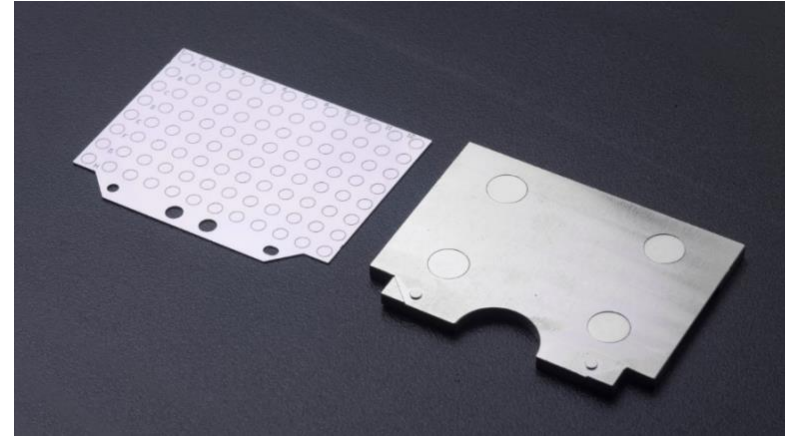


System Autof MS2600 Autobio – płytki



Target slide:

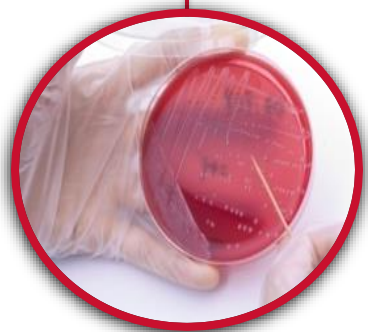
- ✓ Stal nierdzewna
- ✓ Do 5-krotnego mycia z użyciem:
 - Kwasu trifluorooctowego
 - 75% alkoholu etylowego



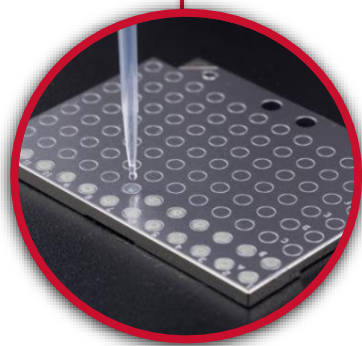
ARGENTA

Przebieg pracy – metoda bezpośrednia

Pobranie kolonii
na płytkę



Naniesienie
matrix



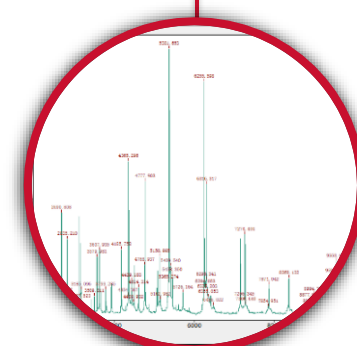
Umieszczenie
płytki w
aparacie



Analiza
MALDI-TOF



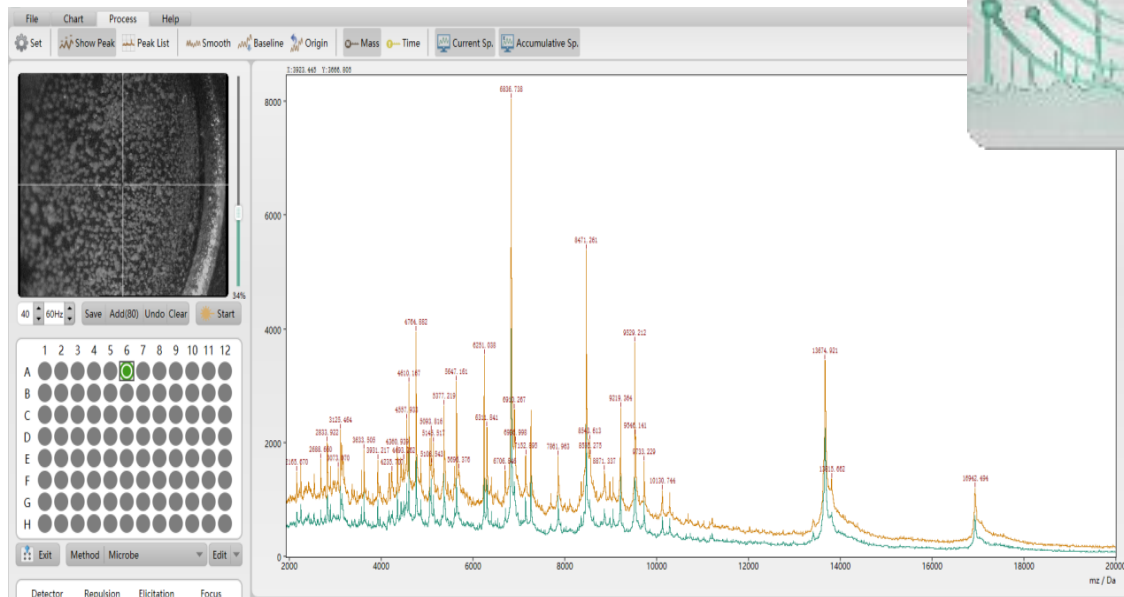
Analiza
widma



ARGENTA

System Autof MS 2600 Autobio Oprogramowanie

- Autof Acquirer – pozwala uzyskać widma masowe i porównać z widmami w bazie danych
- Identyfikacja manualna oraz w serii
- Obecność kamery pozwala określić techniczne przygotowanie próbki



ARGENTA

System Autof MS 2600 Autobio Oprogramowanie

- Autof Acquirer – automatyczne generowanie raportów ogólnych i szczegółowych
- Wskazuje na raporcie wskaźniki punktowe sygnalizujące prawdopodobieństwo poprawności identyfikacji

**Czas uzyskania 96 identyfikacji
około 13 minut !!!!!!!**

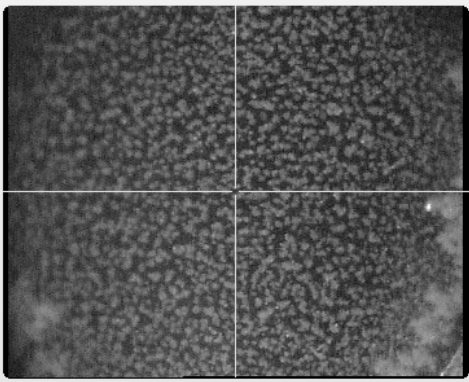
Interpretacja	wartość SCORE
Najwyższa jakość oznaczenia –ID do gatunku Species Reliable	9,000-10,000
Średnia jakość oznaczenia – ID do rodzaju Genus Reliable	6,000-8,999
Niska jakość oznaczenia-brak ID Unreliable	0,000-5,999

The screenshot displays the 'Autof ms1000 Identification Report' interface. It features a header with the 'Autobio' logo and a navigation bar. The main content is divided into several sections:

- Identification Information:** Lists project details such as Project Name (20170725), Operator (Administrator), Completion Time (2017年10月18日 16时38分), Sample Count (4), and Generation Time (2017年10月18日 16时38分).
- Score Annotation:** A legend with four color-coded categories:
 - Green: [9.5, 10.0] Species Reliable
 - Yellow-Green: [9.0, 9.5] Genus Reliable
 - Yellow: [6.0, 9.0] Genus Reference
 - Red: [0.0, 6.0] Unreliable
- Detail:** A table with columns for Spot, Sample Name, Description, Result, and Score. It lists four samples (A1-A4) all identified as 'Escherichia coli' with scores ranging from 9.141 to 9.536.
- A1: 1:** A sub-table showing detailed results for sample A1, including NO, Result (大腸埃希菌 / Escherichia coli), Score (9.519), and Description.



ARGENTA

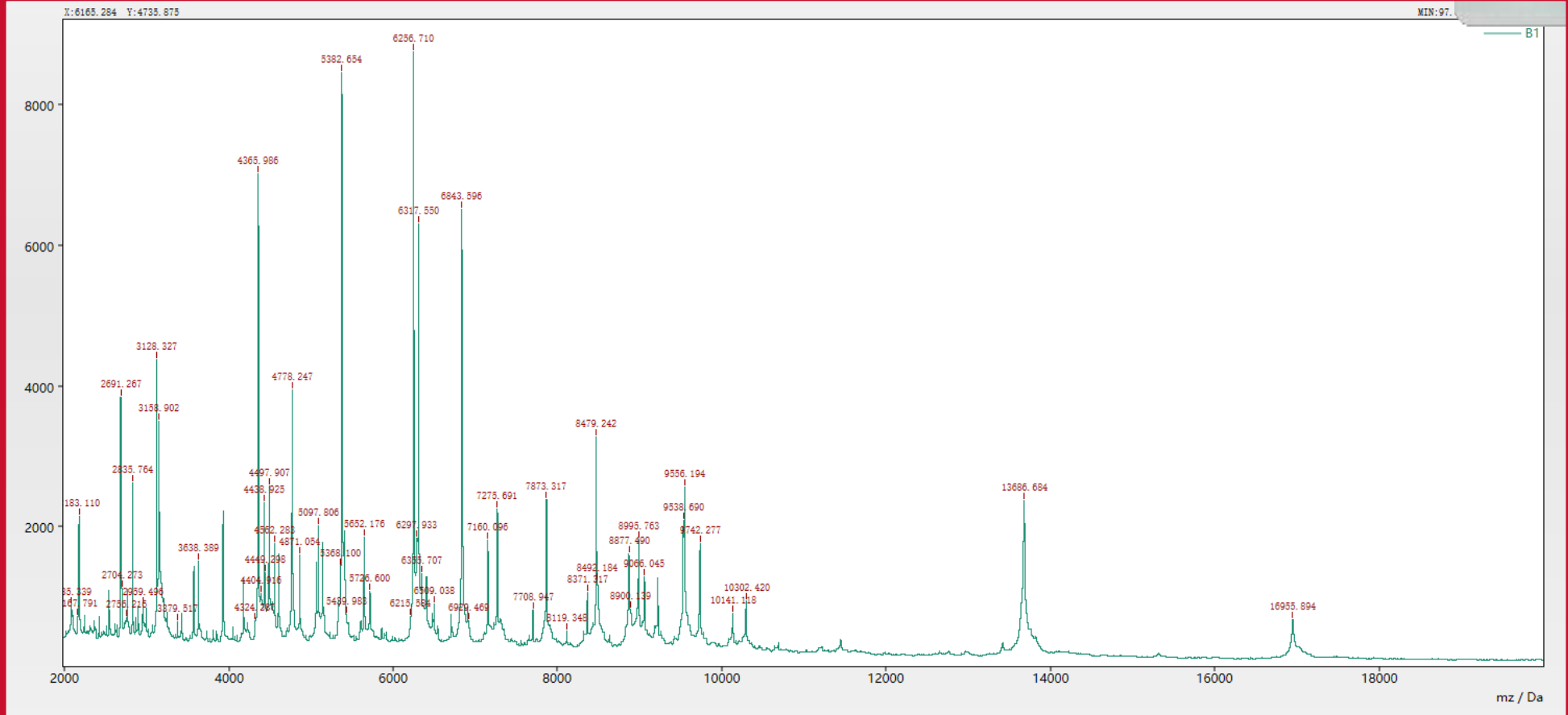


40 60Hz Save Add(0) Undo Clear Start

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
B	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
C	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
D	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
E	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
F	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
G	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
H	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●

Exit Method Microbe Edit

Detector	Repulsion	Elicitation	Focus
2.65 kV 67.72 μA	20.00 kV 80.80 μA	1.90 kV 0.00 μA	6.99 kV 0.00 μA
2.65 kV	20.00 kV	1.90 kV	7.00 kV
HV - On			
Delay 230 ns			



Auto Fast Identification

Calib Sets Detail B1: *Escherichia coli* 9.621 Identify

Mass Auto Batch

Auto Method default Edit Excute Spot Excute Batch

Batch Project: Edit Batch Clear Status

SYS

Laser Camera Set Camera

Sample Platform Coord(μm): (41595, 3625) Spot Calibration

Temperature Temp1: 26.3 °C Temp2: 25.3 °C Temp3: 24.1 °C

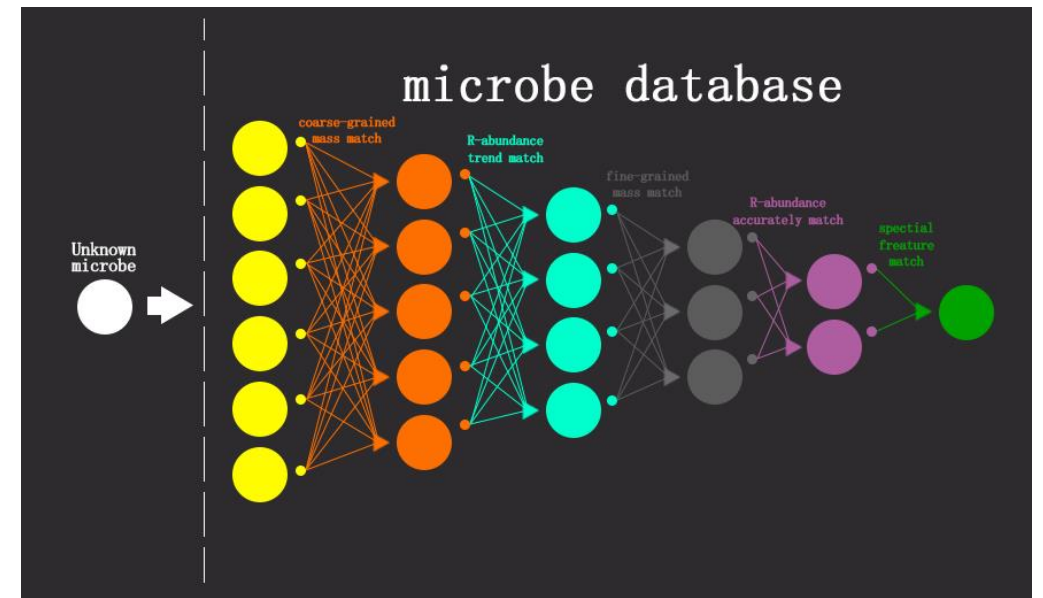
Fans Fan1: run Fan2: run Fan3: run

DAQ Set DAQ

Others Door: close Run: 3809 h

Biblioteka – serce systemu MS1000

- Dwa rodzaje bazy danych – zainstalowana w komputerze dedykowanym do systemu Autof MS 1000 (aktualizacja raz w roku), baza danych w chmurze
- **Stale rozbudowywana** o nowe szczepy, gatunki
- Zawierająca gatunki mikroorganizmów istotnych w różnych obszarach diagnostyki mikrobiologicznej: **klinicznej, weterynaryjnej, przemysłowej, naukowej**



- Kompletna baza danych obejmująca
 - ponad **5000** gatunków,
 - 1000** rodzajów drobnoustrojów
- Unikalna baza danych grzybów strzępkowych zawierająca ponad **450** gatunków i ponad **70** rodzajów.



ARGENTA

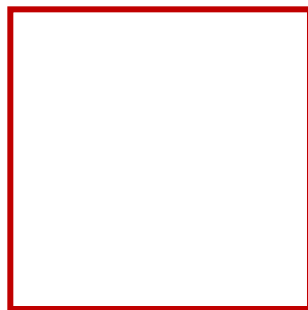
MALDI – TOF MS – zalety technologii

- Wysoka czułość i dokładność metody
- Krótki czas identyfikacji mikroorganizmów, w porównaniu z metodami konwencjonalnymi
- Identyfikacja z jednej kolonii
- Brak konieczności wykonywania dodatkowych testów weryfikujących
- Możliwość identyfikacji szczepów „trudnych”



ARGENTA

Dziękuję za uwagę



Klaudia Zięba

e: k.zieba@argenta.com.pl

t: 451 178 735

