



Zázraky moderní mikrobiologie

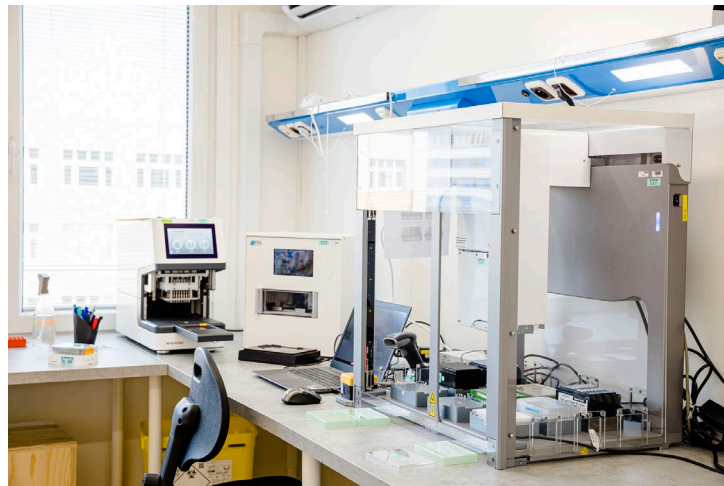
Jaroslav Hrabák

Ústav mikrobiologie a Biomedicínské centrum

Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova

Detekce SARS-CoV-2?

- Vyšetření mnoha set vzorků denně
- Nároky na zpracování vzorků (preanalytická, analytická, postanalytická fáze)
- Automatizace vyšetření



Detekce SARS-CoV-2?

- Vyšetření mnoha set vzorků denně
- Nároky na zpracování vzorků (preanalytická, analytická, postanalytická)
- Automatizace vyšetření

Je tato diagnostika vrcholem klinické mikrobiologie?



Vývoj klinicko-mikrobiologické diagnostiky



National Institute
of Virology and Bacteriology



CHARLES UNIVERSITY
Faculty of Medicine in Pilsen



Funded by
the European Union
NextGenerationEU

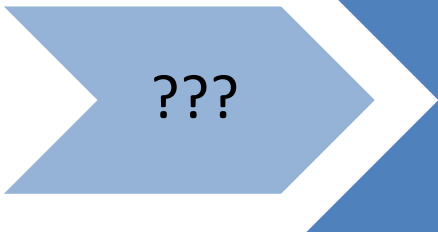
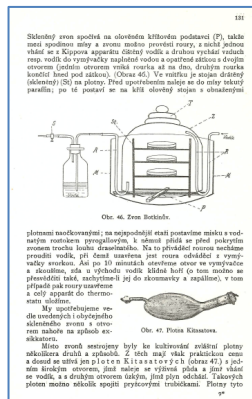
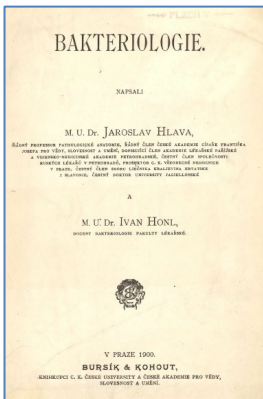


MINISTRY OF EDUCATION,
YOUTH AND SPORTS



CZECH
RECOVERY
PLAN

Historie mikrobiologie a její milníky



První pozorování mikrobů

Antoni van Leeuwenhoek (1632 – 1723)

Souvislost mikrobů a nemocí

Louis Pasteur (1822 – 1895)
Robert Koch (1843 – 1910)

Historie mikrobiologie a její milníky



Kultivační
diagnostika

Antibiotická
terapie

Alexander Fleming
(1881 – 1955)

Nepřímé
diagnostické
metody

- sérologická
diagnostika

Klinická mikrobiologie

Molekulárně-
genetické metody

Rozvoj antibiotické
rezistence

další metody

Rozvoj virologie, klinické mykologie



National Institute
of Virology and Bacteriology



CHARLES UNIVERSITY
Faculty of Medicine in Pilsen



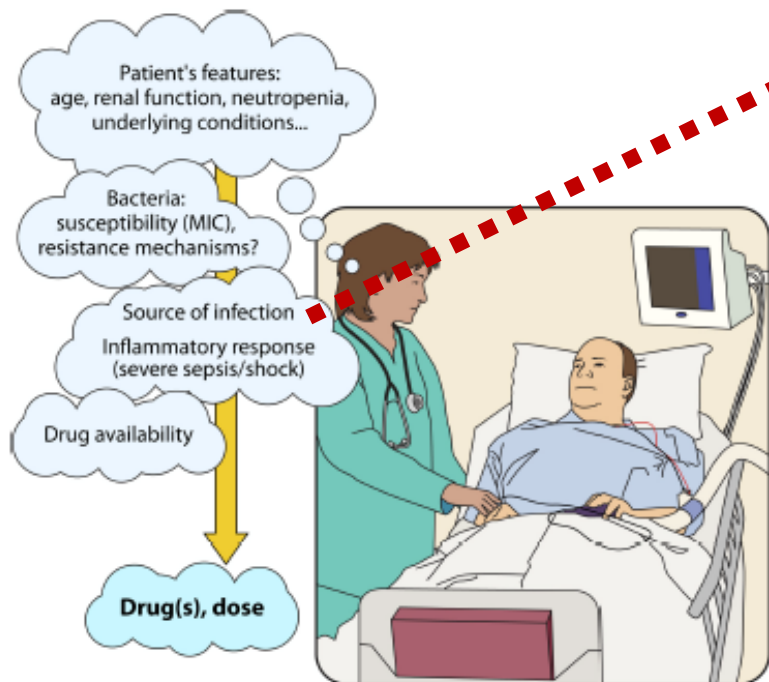
Funded by
the European Union
NextGenerationEU

MSMT
MINISTRY OF EDUCATION,
YOUTH AND SPORTS

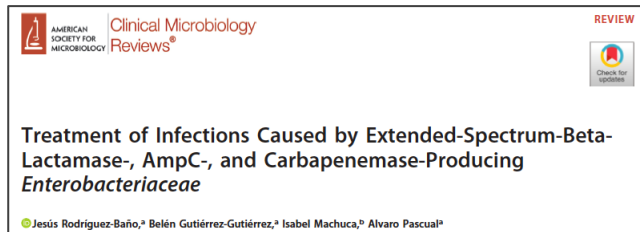


CZECH
RECOVERY
PLAN

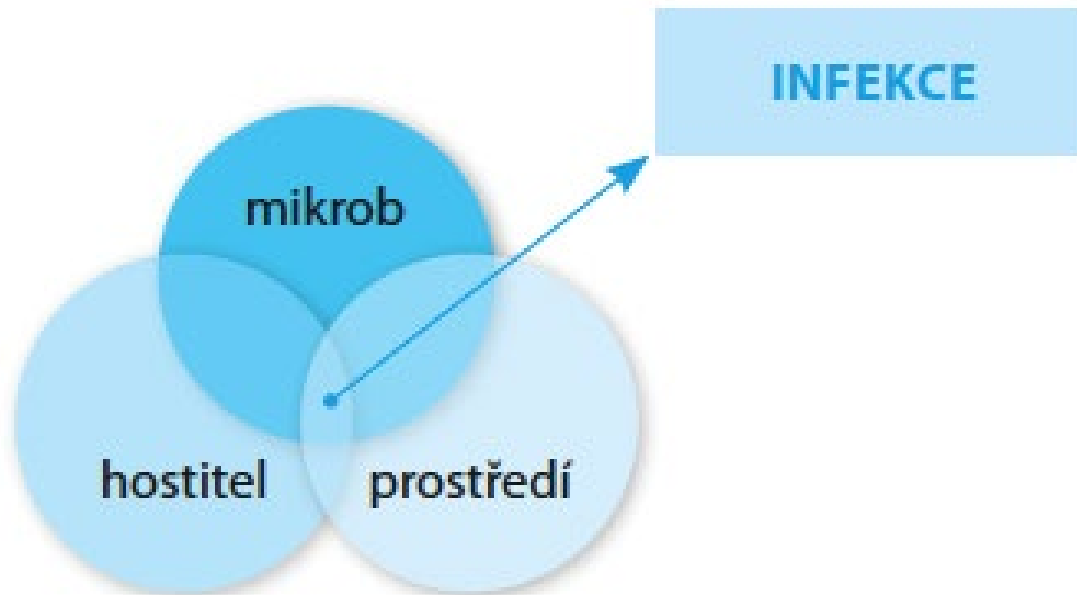
Klinická mikrobiologie a léčba infekcí



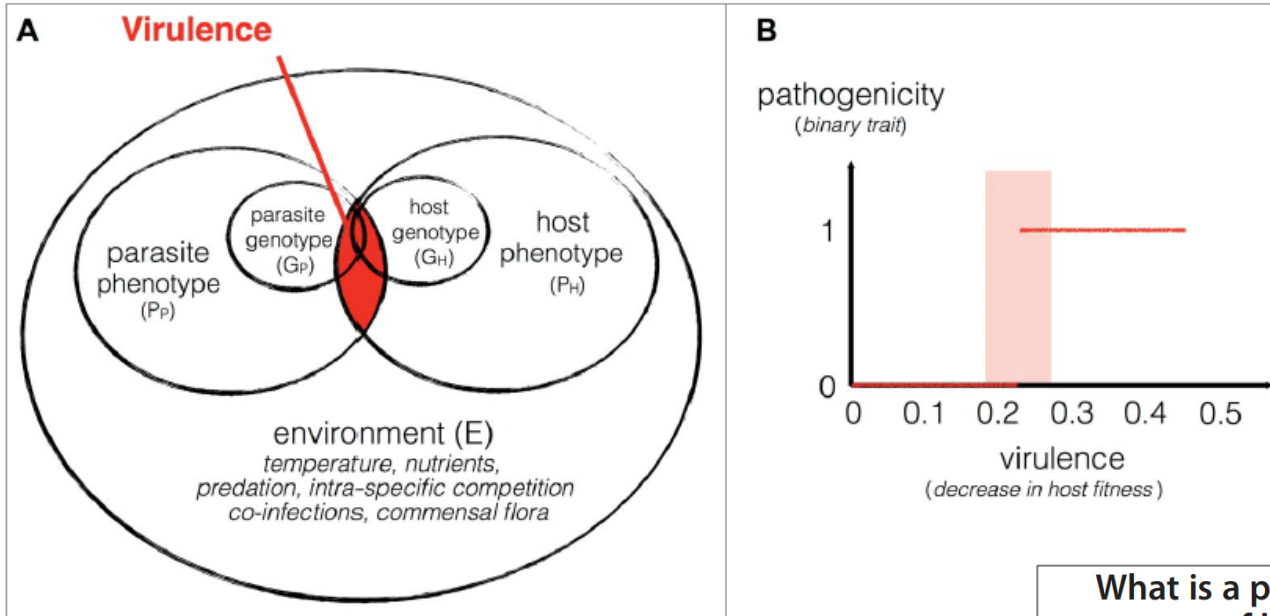
- Rychlost diagnostických metod
- Přesnost metod
- Možnost prevence šíření (molekulární epidemiologie)



Klinická mikrobiologie současnosti



Klinická mikrobiologie současnosti



What is a pathogen? Toward a process view of host-parasite interactions

Pierre-Olivier Méthot^{1,2,*} and Samuel Alizon³

¹Université Laval Québec, Canada; ²Centre Interuniversitaire de Recherche sur la Science et la Technologie; Montréal, Canada;

³Laboratoire MIVEGEC (UMR CNRS-IRD-UM1-UM2 5290), Montpellier, France



National Institute
of Virology and Bacteriology



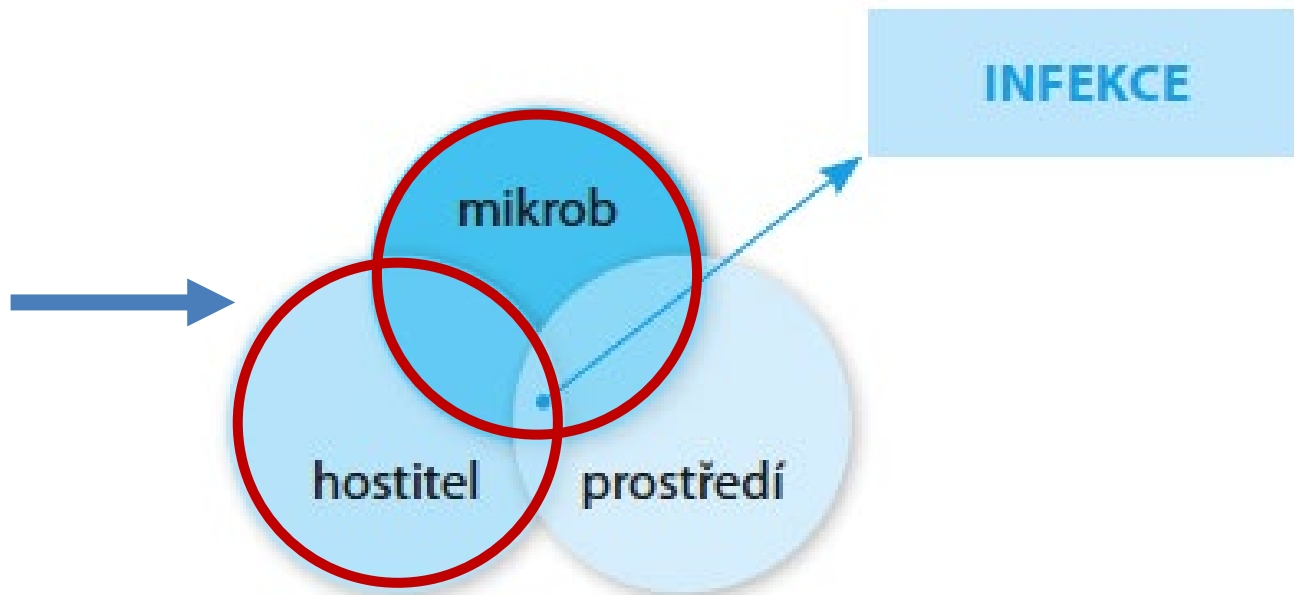
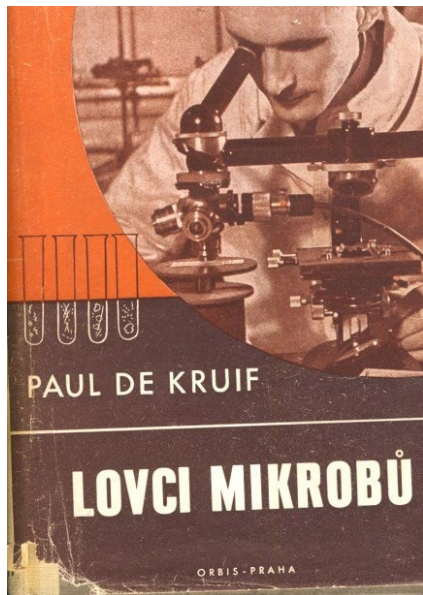
CHARLES UNIVERSITY
Faculty of Medicine in Pilsen



Funded by
the European Union
NextGenerationEU



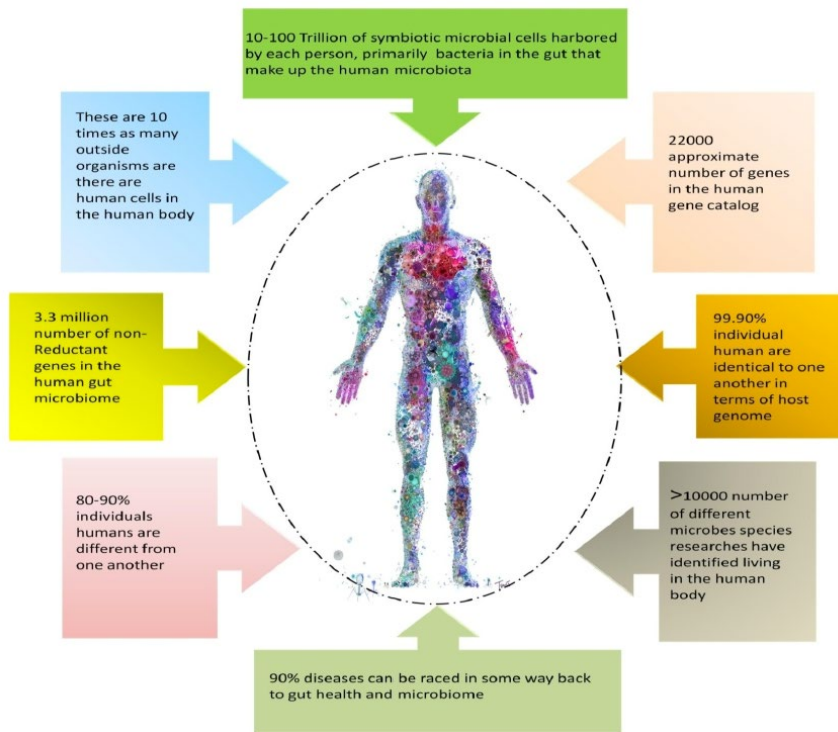
Klinická mikrobiologie současnosti



- Studium interakce hostitel vs. patogen představuje významnou výzvu pro klinickou mikrobiologii



Klinická mikrobiologie současnosti



REVIEW ARTICLE

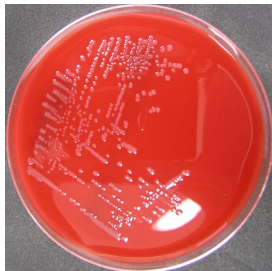
Integrating Microbiome Network: Establishing Linkages Between Plants, Microbes and Human Health

Suresh B. N. Krishna¹, Anamika Dubey², Muneer A. Malla¹, Richa Kothari⁴, Chandrama P. Upadhyay², Jamila K. Adam¹ and Ashwani Kumar^{2*}



Klinická mikrobiologie současnosti

- Omezený počet kultivovatelných mikrobů (“kultivovatelní” mikrobi)

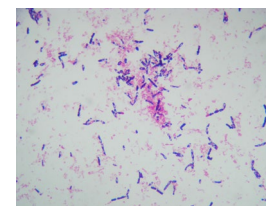


- I v rámci jednoho druhu nebo úzce příbuzných taxonů dochází k významnému rozdílu ve virulenci

(např. *Escherichia coli* vs. *Shigella* spp., *Bacillus anthracis* vs. *Bacillus cereus*)



CDC, Atlanta



National Institute
of Virology and Bacteriology



CHARLES UNIVERSITY
Faculty of Medicine in Pilsen



Funded by
the European Union
NextGenerationEU

MSMT
MINISTRY OF EDUCATION,
YOUTH AND SPORTS



CZECH
RECOVERY
PLAN

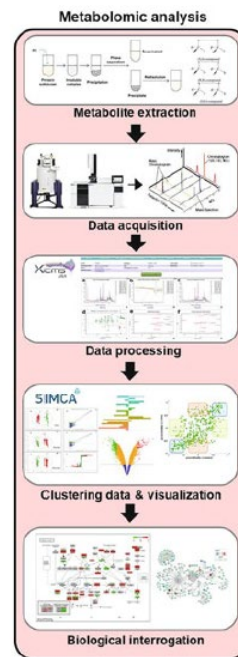
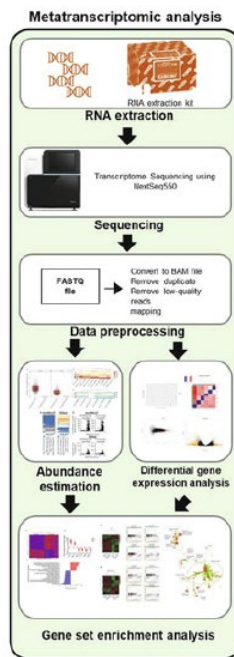
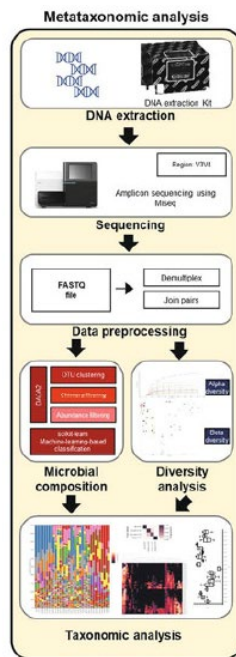
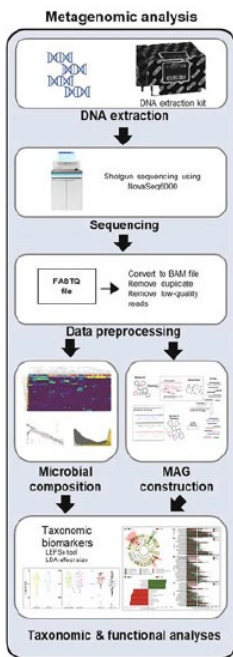
Současné trendy v klinické mikrobiologii

- Rozvoj diagnostických metod
 - Molekulárně genetické metody (PCR, sekvenace DNA, celogenomová sekvenace, metagenomika)
 - Metody hmotnostní spektrometrie (identifikace mikrobů, další aplikace)
- Studium patogeneze na molekulární úrovni
- Molekulární epidemiologie infekčních nemocí



Molekulárně-genetické metody

- Cílená (multiplexní) PCR
- Celogenomová sekvenace pro epidemiologické účely
- Metataxonomika
- Metagenomika



Omics in gut microbiome analysis

Tae Woong Whon^{1†}, Na-Ri Shin^{2†},
Joon Yong Kim¹, and Seong Woon Roh^{1*}



National Institute
of Virology and Bacteriology



CHARLES UNIVERSITY
Faculty of Medicine in Pilsen



Funded by
the European Union
NextGenerationEU

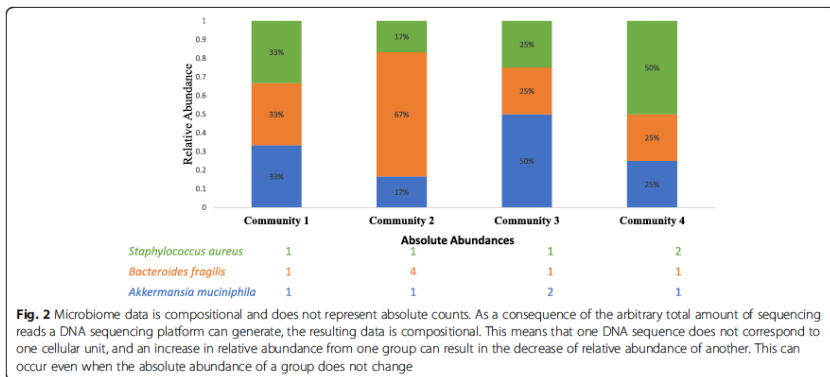
MINISTRY OF EDUCATION,
YOUTH AND SPORTS



CZECH
RECOVERY
PLAN

Limity metataxononických technik

- Detekce taxonů není možná obvykle ani na úroveň druhu...
- Zjištěná kvantita taxonu nemusí odpovídat reálné kvantitě ve vzorku
- Nejsme schopni determinovat virulenci mikroba
- Umožní nám statistické metody determinovat reálnou kauzalitu daného taxonu?



REVIEW Open Access

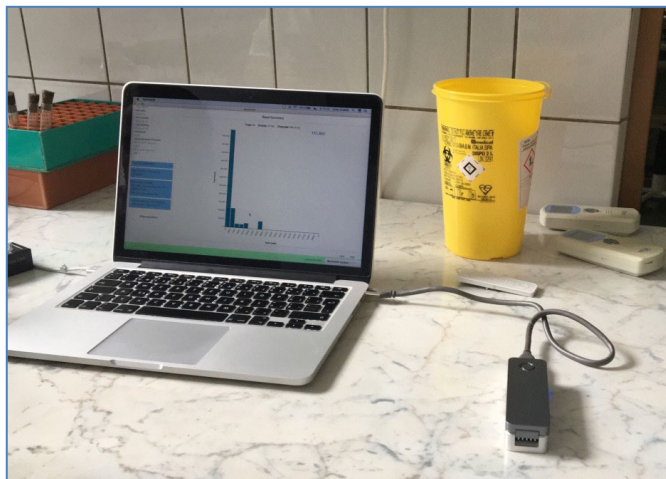
Identifying biases and their potential solutions in human microbiome studies

Jacob T. Nearing¹, André M. Comeau² and Morgan G. I. Langille^{2,3*}

Check for updates

Limity metagenomických technik

- Náročná bioinformatická analýza
- Stále pomalé (2-5 dní)

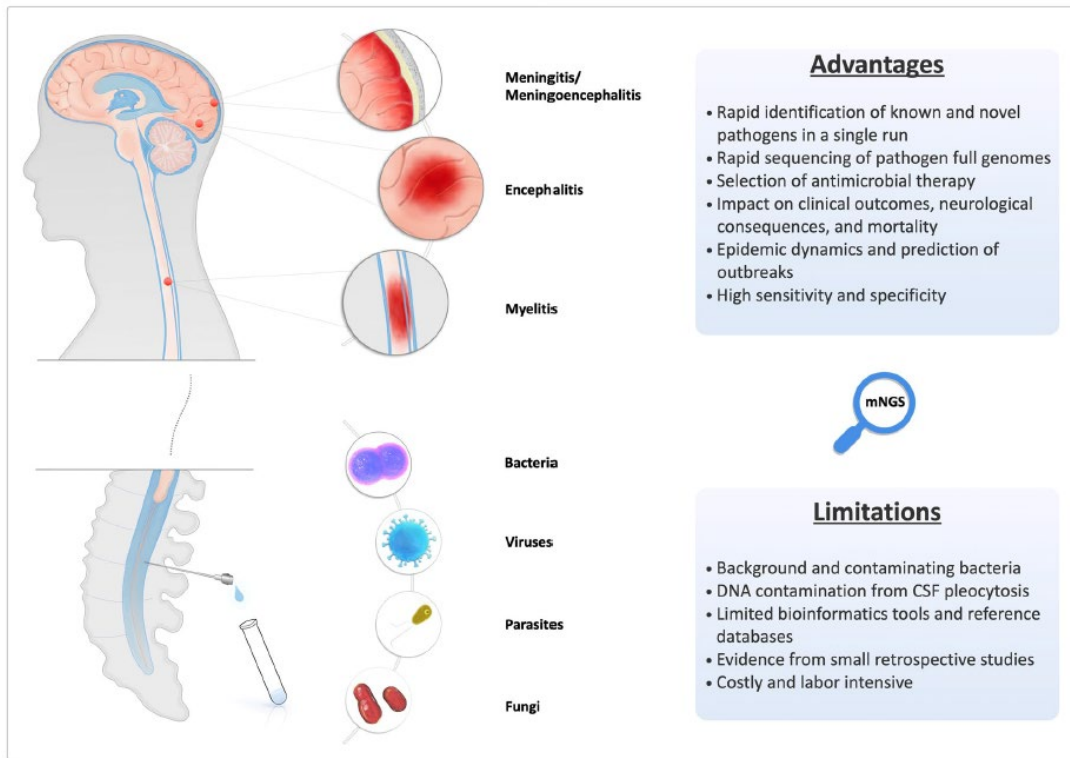


Kdy aplikovat metagenomiku?

- Obecně u primárně sterilních materiálů
- Stále ve výzkumném režimu
- Co nastane po aplikaci IVD-R legislativy? (nelze provádět diagnostiku ve výzkumném režimu)

Evaluating Infectious, Neoplastic, Immunological, and Degenerative Diseases of the Central Nervous System with Cerebrospinal Fluid-Based Next-Generation Sequencing

Konstantinos I. Tsamis^{1,2} · Hercules Sakkas³ · Alexandros Giannakis¹ · Han Suk Ryu⁴ · Constantina Gartzonika³ · Ilias P. Nikas²



National Institute
of Virology and Bacteriology



CHARLES UNIVERSITY
Faculty of Medicine in Pilsen



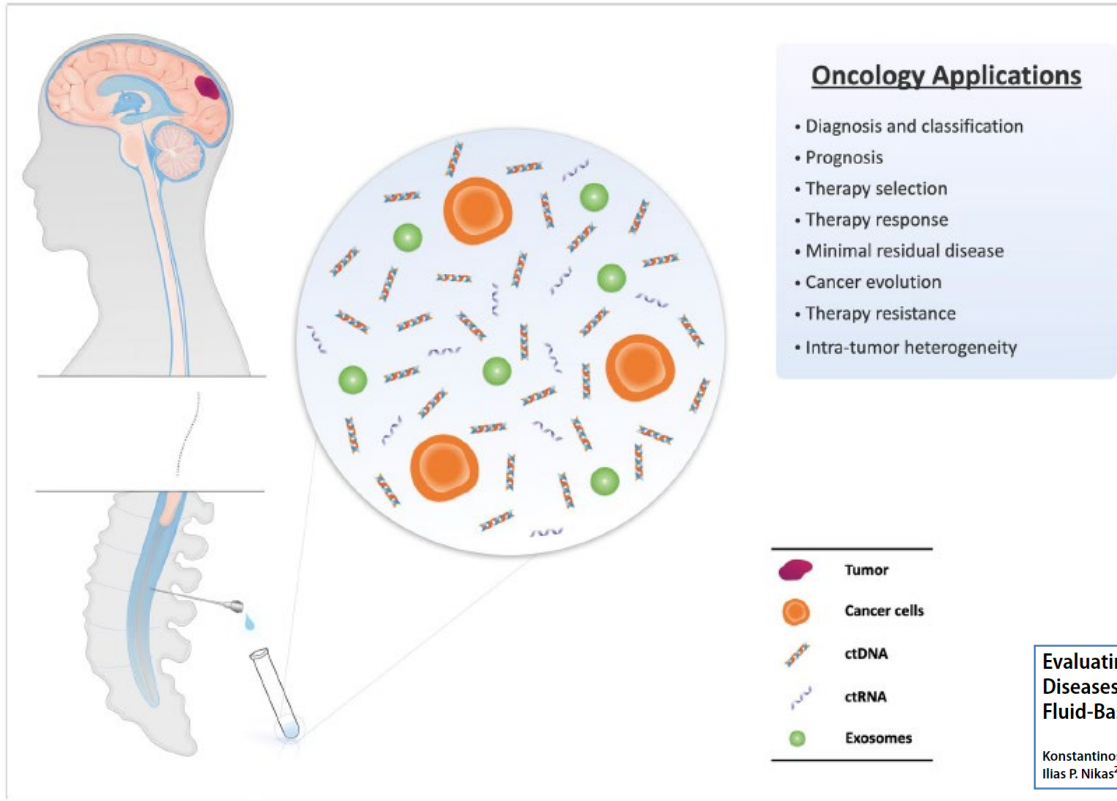
Funded by
the European Union
NextGenerationEU

ME
MT
MINISTRY OF EDUCATION,
YOUTH AND SPORTS



CZECH
RECOVERY
PLAN

Kdy aplikovat metagenomiku?



Evaluating Infectious, Neoplastic, Immunological, and Degenerative Diseases of the Central Nervous System with Cerebrospinal Fluid-Based Next-Generation Sequencing

Konstantinos I. Tsamis^{1,2} · Hercules Sakkas³ · Alexandros Giannakis¹ · Han Suk Ryu⁴ · Constantina Gartzonika³ · Ilias P. Nikas²

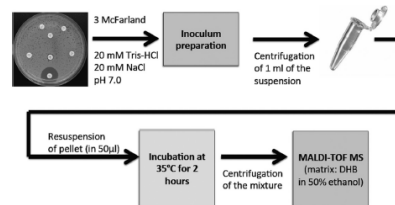
Aplikace hmotnostní spektrometrie v mikrobiologii

- MALDI-TOF MS je standardní metodou pro taxonomickou identifikaci bakterií a mikromycet
- Přesná a rychlá identifikace bakterií (včetně anaerobů) a hub



Aplikace hmotnostní spektrometrie v mikrobiologii

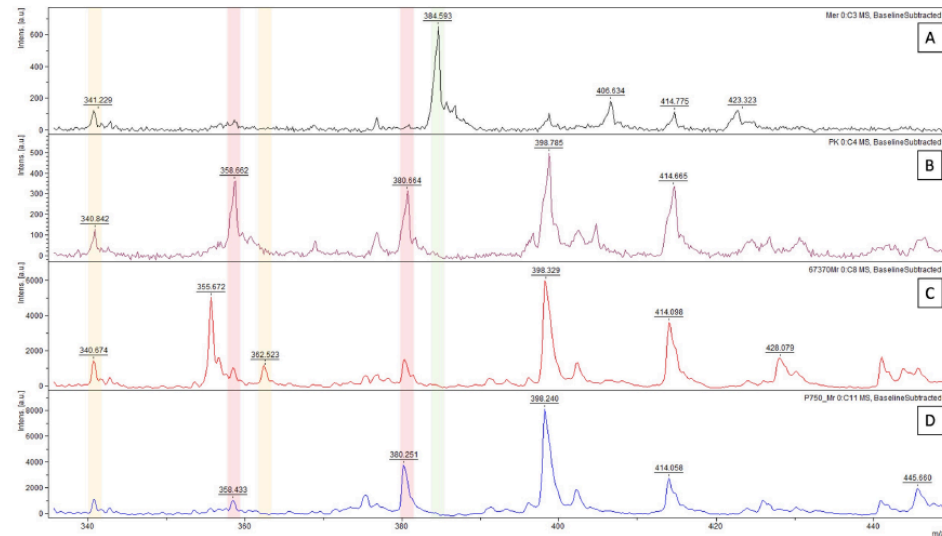
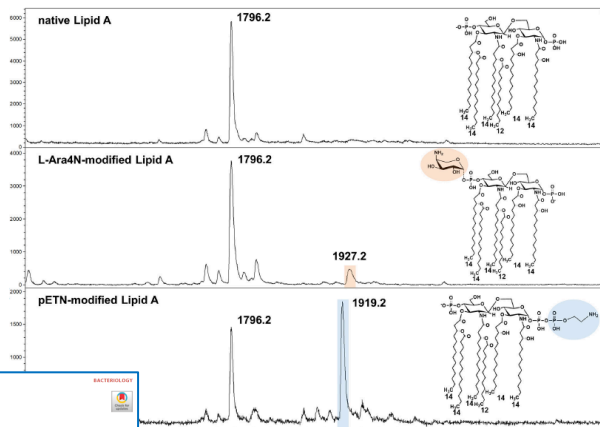
- Možnost detekce antibiotické rezistence
 - Detekce karbapenemáz
 - Detekce rezistence ke kolistinu



scientific reports

OPEN Preferred β -lactone synthesis can explain high rate of false-negative results in the detection of OXA-48-like carbapenemases

Vendula Studentová^{1,2}, Vendula Šedová^{1,3}, Ibrahim Bitar^{1,2}, Veronika Pasková^{1,2}, Jit Moravce¹, Petr Pompach¹, Michael Volný^{1,2}, Petr Novák¹ & Jaroslav Hrabák^{1,2,4}



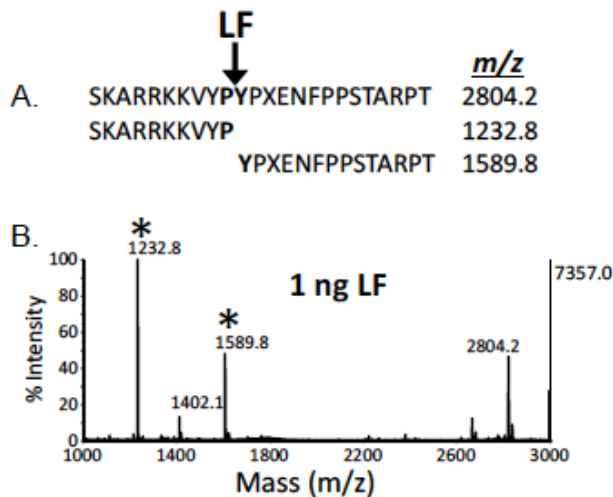
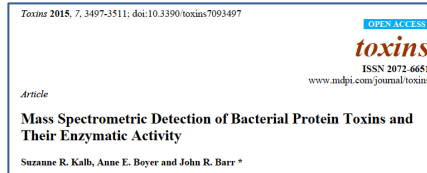
Journal of Clinical Microbiology®

Detection of Colistin Resistance in *Escherichia coli* by Use of the MALDI Biotyper Sirius Mass Spectrometry System

© 2014 Christopher D. Karpman¹, Di Levauro D'Amico^{1,2}, William Bellodi¹, Oliver D'Amico¹, Kevin Giaccheri¹, Barry A. Bonville^{1,3,4}, & Oliver Heide^{1,2,3,4} (Correspondence: A. Bonville, Oliver Heide)

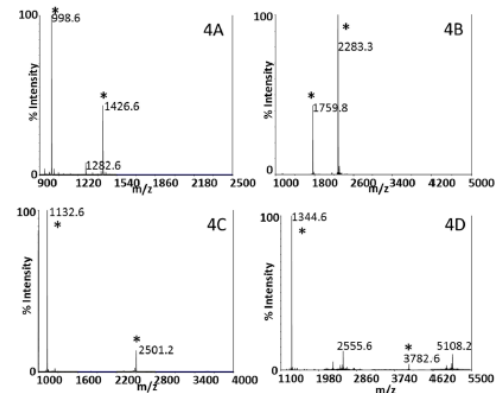
Aplikace hmotnostní spektrometrie v mikrobiologii

- Funkční detekce bakteriálních toxinů
 - *Bacillus anthracis*
 - *Clostridium botulinum*
 - (*Clostridioides difficile* toxin B)



Bacillus anthracis

Peptide	Sequence	m/z Observed
BoNT/A substrate	Acetyl-RGSNPKIDAGNQRATRXLGGR-NH ₂	2406
BoNT/B substrate	LSELDADRADALQAGASQFESSAAKLKRKYWWKNLK	4025
BoNT/E substrate	WWWAKLGQEIDTRNRQKdRIMAKADSNKR-NH ₂	3614
BoNT/F substrate	TSNRRLQQTQAQVDEVVDIMRVNVDKVLERDQKLSSELDADRADAL	5111



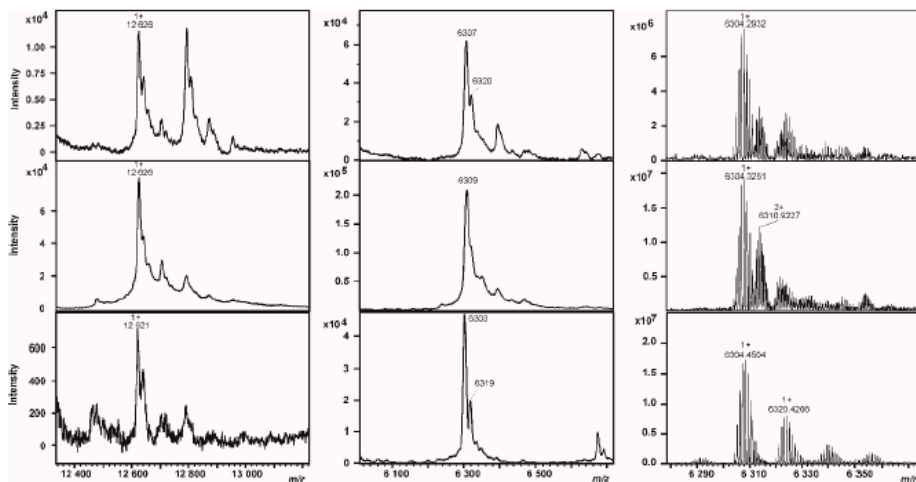
Clostridioides difficile

Aplikace hmotnostní spektrometrie v mikrobiologii

- Detekce markerů zánětu včetně interakce mikrob-hostitel

Rapid Detection of Procalcitonin in septic serum by Immunoaffinity MALDI Chips

Josef Dvorak ^{1,2}, Lucie Kraftova⁴, Vendula Studentova⁴, Martin Matejovic^{4,5}, Jaroslav Raděj^{4,5}, Thomas Karvunidis^{4,5}, Jan Horák^{4,5}, Marcela Králóvcová⁵ Jaroslav Hrabak ⁴, Zuzana Kalaninova ^{1,2}, Michael Volny ², Petr Novak ^{1,2}, Petr Pompach ^{1,2,3}



Závěr



National Institute
of Virology and Bacteriology



CHARLES UNIVERSITY
Faculty of Medicine in Pilsen



Funded by
the European Union
NextGenerationEU

ME
MT
MINISTRY OF EDUCATION,
YOUTH AND SPORTS



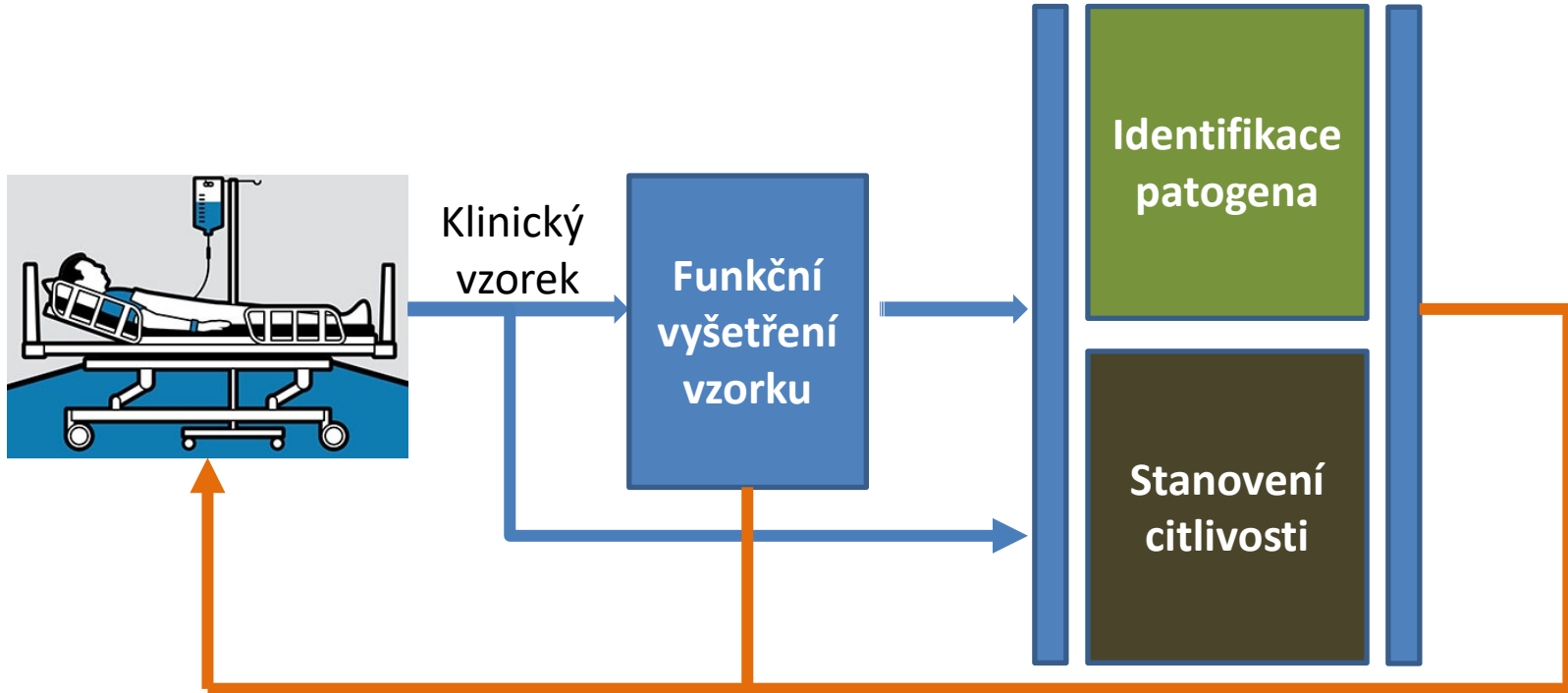
CZECH
RECOVERY
PLAN

Vývoj současné mikrobiologie a její zázraky

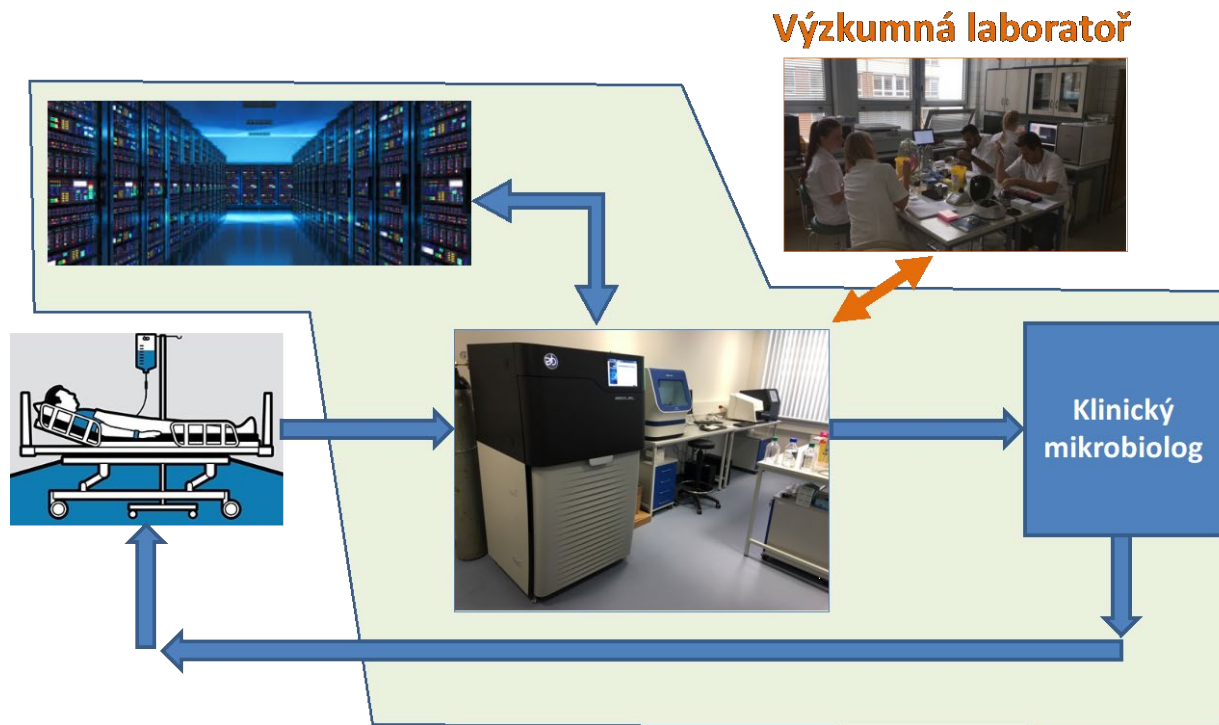
- V současné době prochází mikrobiologie bouřlivým technologickým rozvojem
- Molekulárně-genetické metody (včetně sekvenování 2. a 3. generace) jsou prováděny na rutinní bázi
- V posledních dekádě došlo k prudkému rozvoji aplikace hmotnostně-spektrických metod
- **Diagnostika je založena na syndromech (syndrome-based)**



Vývoj současné mikrobiologie a její zázraky



Jak bude vypadat mikrobiologická diagnostika budoucnosti?



Co nám hrozí?



National Institute
of Virology and Bacteriology



CHARLES UNIVERSITY
Faculty of Medicine in Pilsen



Funded by
the European Union
NextGenerationEU



MINISTRY OF EDUCATION,
YOUTH AND SPORTS



CZECH
RECOVERY
PLAN