

Předkládaná disertační práce je zaměřena na využití metody MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie pro identifikaci vysoce rizikových bakteriálních patogenů. V rámci disertační práce jsou řešeny celkem tři vědecké projekty.

První část disertační práce je věnována nalezení optimálního protokolu přípravy vzorků k MALDI-TOF MS analýze vysoce virulentních bakterií. Na panelu 15 bakteriálních kmenů zahrnujících Gram-pozitivní i Gram-negativní druhy byla provedena srovnávací studie čtyř metod přípravy vzorků, kompatibilních s MALDI-TOF MS. V rámci studie byla porovnávána schopnost inaktivace vzorků bakteriálních kultur, výtěžnost bakteriálních proteinů a kvalita získaných hmotnostních spekter. Na základě výsledků bylo zjištěno, že nejvyššího výtěžku proteinů a optimální kvality spekter je dosaženo při použití metody založené na inaktivaci ethanolem v kombinaci s extrakcí kyselinou mravenčí a acetonitrilem.

Druhý projekt byl zaměřen na tvorbu referenční databáze MALDI-TOF MS profilů vysoce rizikových patogenů. Za použití statistického zpracování změřených hmotnostních spekter byla vytvořena databáze, obsahující v současné době spektrální profily 392 kmenů 12 vysoce virulentních bakteriálních druhů. Databáze byla validována v mezinárodních srovnávacích testech, na základě výsledků validace byla metoda identifikace vysoce rizikových bakterií za použití vytvořené referenční databáze akreditována ČIA a část databáze byla komercializována. Pro účely evropské databáze typizačních znaků vybraných biologických agens byla provedena MALDI-TOF analýza vzorků kmenů *F. tularensis*, *Brucella* spp. a *V. cholerae*. Referenční databáze hmotnostních spekter pokrývající rod *Legionella* byla použita pro identifikaci obtížně určitelných klinických izolátů a diferenciaci sérologicky nerozlišitelných druhů. Použití databáze vedlo k identifikaci 9 nových druhů rodu *Legionella*, jejichž novost byla následně potvrzena sekvenčními analýzami *mip* genu.

Ve třetím projektu, zaměřeném na diferenciaci blízce příbuzných druhů rodu *Yersinia* metodou MALDI-TOF MS, byla vytvořena databáze hmotnostních spekter 146 kmenů příslušejících všem 13 známým druhům tohoto rodu. Ve spektrech byly identifikovány rodově a druhově specifické markery umožňující odlišení blízce příbuzných druhů *Y. pestis* a *Y. pseudotuberculosis*. Použití MALDI-TOF MS/MS analýzy pak vedlo k určení původu SIPB *Y. pestis*, jímž je fragment aktivačního faktoru plazminogenu Pla.