

HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE V DIAGNOSTICE INFEKČNÍCH ONEMOCNĚNÍ

ANDREA PALYZOVÁ a VLADIMÍR HAVLÍČEK

Mikrobiologický ústav AV ČR, Vídeňská 1083, 142 20
Praha 4
vlhavlic@biomed.cas.cz

Došlo 4.11.19, přijato 28.11.19.

Klíčová slova: mikrobiologie, infekční onemocnění, hmotnostní spektrometrie, bakterie, vláknité houby, siderofory

Obsah

1. Úvod
2. Hmotnostní spektrometrie v mikrobiologii
3. Závěr

1. Úvod

Hmotnostní spektrometrie do oblasti klinické mikrobiologie přispívá zásadním způsobem a zahrnuje charakterizaci virů, bakterií, mykobakterií i vláknitých hub včetně kvasinek. V současnosti je celosvětově, jenom houbovými onemocněními, zasažena zhruba jedna miliarda lidí, z nichž v 11,5 milionech případů se jedná o život ohrožující infekce¹. Přes 1,5 milionů klinických případů ročně končí smrtí, viz průběžně aktualizovaná data na stránkách Global Action Fund for Fungal Infections (<https://www.gaffi.org/>). Jedná se především o meningitidu vyvolanou kryptokoky, infekce vyvolané *Pneumocystis jirovecii*, histoplazmózu nebo chronickou aspergilózu po prodělané tuberkulóze². Nejvíce ohroženou skupinou je HIV-pozitivní populace (human immunodeficiency virus) v rozvojovém světě. V rozvinutých zemích za posledních deset let došlo k intenzivnímu nárůstu houbových infekcí u rizikových skupin pacientů s nádorovým onemocněním, po transplantacích, na jednotkách intenzivní péče, s astmatem a cystickou fibrózou. Výjimkou nejsou ani zdraví jedinci, u kterých se projeví houbové infekce vlivem masivní inokulace při úrazu nebo u tonoucích pacientů. K infekci může rovněž dojít při nádechu většího množství spor (např. v případě endemické infekce kokcidiodomykózy v prašném prostředí) nebo vstupem přes gastrointestinální trakt. Když v roce 2011 tornádo o síle E5 zasáhlo americký Joplin a zabilo 156 lidí, zygomykózy a mukormykózy měly za následek desítky těžkých fungálních infekcí a 15 mrtvých. Podobný případ mukormykózy byl popsán na pediatrickém oddělení na klinice v Louisianě, kde v krátkém časovém intervalu zemřelo pět dětských pacientů³. Novináři rychle nemocnici našli a případ ochotně medializovali, takže i laická veřejnost brzy zjistila, že

Rhizopus delemar se do prostěradel dostal z prádelny, která byla v minulosti zaplavena při hurikánu. Ve všech výše uvedených případech je třeba zvážit, kolik z těchto lidí zemřelo jen proto, že byli imunokompromitováni, aniž to tušili. Rigoróznější srovnání by vyžadovalo na místech přírodní katastrofy (tsunami, erupce, tornádo) současně provést srovnávací veterinární mikrobiologii a patologii.

V České republice je infekčními chorobami mykotického původu nejvíce ohrožena imunokompromitovaná populace, zvláště pacienti s hematologickými onemocněními, pacienti po transplantacích, diabetici, HIV-pozitivní pacienti a populace léčená vysokými dávkami antibiotik. K odhalení plicní infekce nestačí klasické rentgenové snímkování, ale základem je počítačová tomografie. Podle EORTC (European Organization for Research and Treatment of Cancer) kritérií jsou směrnatnými znaky tvorba nodulů, kavit a halo-efektů⁴. Pozorování halo znaků může kromě časté aspergilózy znamenat i onkologické onemocnění nebo jinou formu mykózy. Přímými diagnostickými metodami jsou ovšem cytologie, mikroskopie a kultivace kombinovaná s technikou desorpce a ionizace za přítomnosti matrice (MALDI), která je nejčastěji implementována na analyzátoch doby letu (time-of-flight, TOF). Nepřímými metodami jsou sérologická stanovení (stanovení mikrobiálního alfa galaktomananu nebo beta-glukanu ELISA technikami – Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), barkódování rDNA fragmentu (ITS1-5.8S-ITS2) s použitím PCR technik (polymerase chain reaction, polymerázová řetězová reakce) nebo použití specifických protilátek (třeba myšího MAb JF5:IgG3) proti fungálním glykoproteinům. Právě poslední stanovení může mít v budoucnu velký význam v rozvojovém světě díky nízké ceně příslušného jednorázového testu, který lze použít i v polních podmínkách (tzv. lateral flow device). Nízká specificita a citlivost plynoucí z prokřížené reaktivity vůči jiným patogenům dělají z nepřímých diagnostických technik spíše metody screeningové. Pacienti s krevními malignitami tvoří protilátky proti mikrobiálním glykoproteinům, a pokud ano, příslušný patogen lze stanovit pouze z bronchoalveolární laváže nebo séra. Stejně jako jakoukoli bílkovinu, nelze glykoprotein stanovit v moči, pokud pacientovi správně fungují ledviny. Největší účinnost stanovení biomarkerů má tedy jejich přímý záchyt, např. plicní bronchoskopií. V případě invazivní aspergilózy (IA) u neutropenických pacientů se např. galaktomanan do séra poměrně dobře prezentuje a v těchto případech je velmi dobře použitelný jako časný diagnostický marker IA. Avšak ani invazivní bronchoskopie ne vždy postihne chronickou plicní aspergilózu, neboť jen část případů se vyvine až do stádia většího aspergilomu⁵. Jenom s touto nemocí, po předchozí prodělané a vyléčené tuberkulóze, bylo v roce 2016 spojených 450 000 úmrtí⁶.

Skoro 10 % vůbec všech případů tuberkulózy má v pozadí aspergilózu. Z poloviny se jedná o HIV pozitivní pacienty, kteří by přežili déle, pokud by byli léčeni antimykotiky⁷. Na tuberkulózu samotnou celosvětově umírá 1,7 milionů lidí ročně, nejvíce je zasažen africký kontinent⁸. Podle posledních zpráv WHO se incidence v České republice pohybuje v desítkách případů, ale jsou evropské státy, kde je výskyt významně vyšší. U tuberkulózy je nejčastějším infekčním agens *Mycobacterium tuberculosis*. Jedná se o intracelulární mykobakteriální patogen, jehož včasná přímá detekce je obtížná všemi známými metodami. Problém včasné a specifické diagnostiky avšak platí pro většinu mikroorganismů, možná s výjimkou rychle rostoucích bakterií na selektivních médiích.

Co se týče bakteriálních infekcí, jejich rychlou a spolehlivou detekci zajišťuje technika MALDI-TOF. U bakteriálních patogenů největší potíže způsobují rezistentní kmeny, jejich výskyt vázaný na časté aplikace antibiotik v klinice i zemědělství strmě narůstá^{9,10}. Největší pozornost zasluhují tzv. ESKAPE patogeny – *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Enterobacter* species. V následujícím textu se budeme věnovat vybraným mikrobiologickým aplikacím zajímavých z pohledu hmotnostní spektrometrie.

2. Hmotnostní spektrometrie v mikrobiologii

Jak již zaznělo v úvodu, biologická hmotnostní spektrometrie dokáže dobře charakterizovat všechna hlavní infekční agens, tedy viry, bakterie, mykobakterie, vláknité houby i kvasinky. V případě analýzy virů se komerčního využití dočkala technika PCR kombinovaná s hmotnostní spektrometrií a ionizační elektrosprejem¹¹. Přístroj byl založen na analýze virových nukleových kyselin, dodávala ho firma Abbott pod názvem PlexID, ale v současnosti se již přístroj neprodává. Z experimentálních přístupů je třeba jmenovat techniky měřící intaktní virové částice, tedy GEMMA (gas-phase electrophoretic mobility molecular analysis)¹² a CDMS (charge-detection mass spectrometry)¹³. Řada prací uvádí proteomické či peptidomické aplikace mířící na kapsidové bílkoviny^{14,15}. Otázkou zůstává, jestli se tyto aplikace dočkají rutinního klinického využití, protože z podstaty věci budou vždy virové bílkoviny výrazně maskovány bílkoviny hostitelských buněk.

Oproti analýze virů je charakterizace bakterií v literatuře daleko více zastoupena, možná i z důvodu, že lze připravit zcela čisté bakteriální kultury. První práce jsou už z let šedesátých¹⁶, ovšem první zásadní práce je až z roku 1975 a popisuje bakteriální charakterizaci na základě nízkomolekulárního, zvláště lipidického profilu¹⁷. Bílkoviny představují téměř 50 % buněčné suché váhy v mikroorganismech a tudíž se i dobře hodí jako biomarkery. Neribozomální peptidy a lipidy jsou zastoupeny jen v jednotkách procent a je třeba správně volit jejich obohacovací techniku. RNA je zastoupena ještě méně (< 1 %), DNA molekula je v buňce v jediné kopii a tudíž bez PCR

by genová analýza nebyla vůbec možná. Z lékařského i patientského hlediska jsou ideálními molekulárními značkami látky, které lze získat neinvazivně. Zkoumá se diagnostický potenciál nízkomolekulárních látek v dechu i moči. Metabolomické přístupy se soustředí na mikrobiálně specifické sekundární metabolity, které si nevytváří sám hostitel a lze jich využít nejen k zachycení včasného stadia infekce, ale i k neinvazivnímu monitoringu průběhu léčby¹⁸.

První komerční produkt, který využíval k identifikaci mikroorganismů otisku ribozomálních bílkovin, přišel na trh v roce 2000 pod názvem MicrobeLynx, ale byl brzy stažen z trhu (Waters, UK). Této obchodní chyby využila firma Bruker, která od roku 2007 nasycuje všechna klinická pracoviště produktem BioTyper a jen v roce 2015 měla přes 1500 instalací (z toho v ČR cca 40). Z hlediska objemu prodeje jsou daleko menší produkty firem BioMérieux (s databází Saramis) a Shimadzu¹⁹. Všechny tyto metody jsou založeny na standardizované přípravě vzorku a následném porovnávání konvenčního MALDI spektra se standardními profily ribozomálních bílkovin v rozsáhlé mikrobiální knihovně. Profil spektra je odvislý od kultivačních podmínek mikroorganismu. Knihovny jsou v současnosti velmi rozsáhlé a zahrnují i kmeny téhož mikrobiálního druhu, ale s odlišnou virulencí či citlivostí vůči léčivům. Ribozomální otisk prstu si získal velkou oblibu v lékařské komunitě, protože celý identifikační systém je plně automatizovaný, dokáže ho obsloužit laborant a je velmi rychlý. Zatímco v minulosti se muselo čekat na nárůst dermatofytu třeba šest týdnů, MALDI-TOF dá informaci o povaze vzorku po 2–3 dnech krátké kultivace díky malému množství mikrobiálních buněk nezbytných k vlastní analýze. U bakterií trvá růst primokultury řádově hodiny. MALDI-TOF tak začíná z trhu vytěšňovat klasická biochemická stanovení a v současnosti míří hlavně do oblasti určení virulence nebo citlivosti na antibiotika²⁰. Lze přímo sledovat degradaci příslušného antibiotika mikrobiálními enzymy. Druhá varianta, přímý monitoring molekulárních hmotností enzymů, je obtížnější, ale v případě hojněji zastoupených laktamas a vhodné úpravy vzorku v principu možný. Postupy, jak přímo stanovit neznámou rezistenci mikroorganismu na obecné léčivo, lze nalézt v patentové i běžné literatuře²¹.

Hmotnostní spektrometrie může být použita nejen k primární diagnostice, ale používá se i k monitorování průběhu léčby, která je nákladná a složitá. V případě aspergilózy se v současnosti používají dvě terapeutické cesty. U cesty klasické, v našich krajích dominující, se u suspektních pacientů ihned přeléčuje stav spojený s neutropenií a zvýšenou teplotou pacienta. Sofistikovanějším přístupem je preemptivní metoda, kdy se poctivě praktikují dostupné sérologické a molekulární metody (galaktomanan, rDNA). Studie ukazují, že u preemptivní cesty se dosahuje nejen nižší mortality, ale rovněž se zbytečně nezatažují pacienti toxickou léčbou, která se nasazuje v cca 60 % případů. Antimykotická terapie je navíc finančně nákladná. Složitost lékařského rozhodnutí plyne z následujícího příkladu. Při odběrech vzorků z plíc se

Tabulka I

Vlastní specifické či méně specifické mikrobiální siderofory produkované klinicky významnými bakteriemi a vláknitými houbami

Patogen	Siderofor	Konstanta stability (Fe)	Zařazení
<i>Aspergillus fumigatus</i>	triacetylfusarinin C	10^{32}	houba
	ferricrocin	10^{26}	
<i>Scedosporium apiospermum</i>	<i>N</i> ^α -metyl coprogen B	10^{25}	houba
<i>Rhizopus oryzae</i>	rhizoferrin (vlastní siderofor)	10^{25}	houba
<i>Yersinia pestis</i>	yersiniabactin	10^{36}	bakterie
<i>Staphylococcus aureus</i>	staphyloferrin A	10^{25}	bakterie
	staphyloferrin B	10^{25}	
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	mycobactin S (intracelulární)	10^{26}	mykobakterie
	carboxymycobactin (extracelulární)	10^{39}	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	pyoverdin	10^{32}	bakterie
	pyochelin	10^5	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	enterochelin	$10^{43} - 10^{49}$	bakterie
	yersiniabactin	10^{36}	
	aerobactin	10^{22}	
<i>Escherichia coli</i>	enterochelin	$10^{43} - 10^{49}$	bakterie
	aerobactin	10^{22}	
<i>Corynebacterium glutamicum</i>	corynebactin	10^{48}	bakterie
<i>Enterobacter spp.</i>	aerobactin	10^{22}	bakterie

najde např. 20 izolovaných kolonií téhož mikrobiálního druhu. Z toho dvě kolonie mohou být rezistentní na nasazené antimykotikum první volby. Léčba tudíž začíná úspěšně, 18 kolonií je eradikováno, ale zbylé zůstávají dormantní²². Pokud se tato rezistence včas neurčí, následky pro pacienta mohou být fatální.

Další důležité mikrobiologické aplikace hmotnostní spektrometrie jsou ve veterinární a zemědělské mikrobiologii. Mikroby se rychle šíří, současné studie uvádějí 8 km/rok, a zasahují nové oblasti²³. Pokud by fytopatogeny zasáhly hlavní zemědělské plodiny současně tak, jak to známe z minulosti z časově oddělených napadení různých komodit, tak by v důsledku zemědělských ztrát bylo možné uživit pouze 38 % současné světové populace. A to nemluvíme o tom, že podle výpočtů bude pro zajištění výživy světové populace potřeba za 50 let zdvojnásobit výrobu zemědělských produktů. Jedním z důvodů nástupu patogenů je zavážení moderních zemědělských technik, které narušují rovnováhu v trojúhelníku hostitel-patogen-prostředí. Ztráty na pšenici jen v USA představují 600 miliard dolarů ročně²⁴.

Současná mikrobiologická literatura ukazuje řadu dalších moderních biomedicínálních a spektrometrických aplikací. Jednou z nich je společná kultivace různých mikroorganismů na jednom selektivním mediu. Vzájemná kompetice jednotlivých mikroorganismů vede k produkci antimikrobiálních produktů, které mají veskrze zajímavé biologické vlastnosti a mohou se následně z interakčních zón izolovat²⁵. Měření velikosti inhibičních zón lze provádět techni-

kami zobrazovací hmotnostní spektrometrie s ionizací MALDI²⁶. Desorpční nanoelektrosprej byl použit stejnou skupinou autorů ke sledování dynamiky metabolické výměny mezi mikrobiálními komunitami²⁷. Zatímco velká část výzkumu v hmotnostní spektrometrii směřuje k analýze jediné buňky²⁸, či dokonce k subcelulární analýze²⁹, existují výzkumné skupiny, které jdou zcela opačným směrem. Např. tým Pietera Dorresteina (La Jolla, USA) pomocí technik hmotnostní spektrometrie provádí 3D kartografii objektů včetně lidí, a to v centimetrovém, metrovém, či ještě větším měřítku^{30–32}. Zobrazení se děje skrze sekundární metabolity mikroorganismů³³. Například vybrané cyklické lipopeptidy, pokud jsou aplikovány na kůži, dokáží chránit hostitele před stafylokokovou infekcí³⁴. Jedinci, kteří používali hydratační krém, tuto protektivní funkci ztratili.

Sekundární metabolismus mikroorganismů používá i naše výzkumná skupina pro neinvazivní diagnostiku mikrobiálních infekcí, ať už houbového³⁵ či bakteriálního³⁶ původu. Specifickými molekulárními značkami jsou mikrobiální siderofory, tedy faktory virulence, které mikroby používají v raném stádiu infekčního procesu v boji o hostitelské železo³⁷. Při směsných infekcích mikroorganismy nejdříve působí v součinnosti jako přátelé (friends), po překonání imunitní odpovědi pak přecházejí do vzájemného souboje jako nepřátelé (enemies). V literatuře se takto setkáváme s pojmem „frenemies“ a ze vzájemných soubojů často vychází jako vítěz ten, který má lepší bojový arzenál. Současná literatura se zevrubně věnuje tvorbě

a inhibici mikrobiálních biofilmů. Ukazuje se, že hráč lépe uzurpující železo (tedy ten, který má vyšší konstantu stability, tab. I), ve vzájemném mikrobiálním souboji vyhrává³⁸. V tabulce nejsou uvedeny patogeny, které využívají xenosiderofory, tedy siderofory produkované jinými mikrobiálními druhy (*Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*) ale využívané odlišným mikroorganizmem. Je známo, že v dýchacím traktu u pacientů s cystickou fibrózou nikdy vedle sebe v symbióze nežijí *Pseudomonas aeruginosa* a rod *Scedosporium*³⁹. Vždy je kultivován jen jeden z patogenů. Analytická chemie metaloforů je v současnosti nejčastěji řešena technikou kapalinové chromatografie s vysoce rozlišenou hmotností spektrometrií (LC-MS) či zobrazovací hmotnostní spektrometrií (MSI).

Je třeba zdůraznit, že hmotnostní spektrometrie si neporadí s určením bohaté směsi mikrobů. Třeba analýza střevního mikrobiomu se musí (a s obtížemi) provádět moderními genovými sekvenčními technikami. Právě tyto techniky ukázaly na možnost, že složení střevní mikroflóry ovlivňuje celou řadu chorob včetně neurologických^{40,41}.

3. Závěr

V roce 2017 infekční choroby způsobily smrt 8 milionů lidí a byly i nejčastějším faktorem lidské nemoci (400 tisíc let lidských životů jen za rok 2017)⁴². Nárůst frekvence rezistentních kmenů bude mít za následek, že v roce 2050 se infekční choroby stanou nejčastějším důvodem lidské úmrtnosti (10 milionů případů) a předstihnou všechny ostatní dominantní příčiny úmrtí (rakovina, diabetes, autonehody), viz obr. 1 v cit.⁴³. Retrospektivní studie také za posledních padesát let zpět potvrdily celosvětový nástup patogenů i do zemědělství a veterinárního lékařství. Uvádí se, že existuje cca 10 000 zemědělských patogenů a že zhruba 100 patogenů napadá zvířata. Zatímco v zemědělství nahodilé infekce představují 30% ztráty úrody, při epidemických rozměrech je zemědělská ztráta stoprocentní. Na rozdíl od savců se velmi málo ví o rostlinném imunitním systému. Jen cca 20 patogenů zásadně ohrožuje lidskou populaci přímo⁴⁴. Je zajímavé, že na následky třeba houbových onemocnění umírá daleko více lidí než na novinářsky zajímavé jiné mikroorganismy, jako je virus hemoragické horečky ebola⁴⁵.

Práce byla podpořena Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky (LO1509) a Grantovou agenturou České republiky (19-10907S).

LITERATURA

1. Brown G. D., Denning D. W., Levitz S. M.: *Science* 336, 647 (2012).
2. Prevots D. R., Marras T. K.: *Clin. Chest Med.* 36, 13 (2015).
3. Duffy J., Harris J., Gade L., Schulster L., Newhouse E., O'Connell H., Noble-Wang J., Rao C., Balajee S. A., Chiller T.: *Pediatr. Infect. Dis. J.* 33, 472 (2014).
4. De Pauw B. a 31 spoluautorů: *Clin. Infect. Dis.* 46, 1813 (2008).
5. Hou X., Zhang H., Kou L., Lv W., Lu J., Li J.: *Medicine (Baltimore)* 96, e8315 (2017).
6. Jugessur J., Denning D.: <https://www.gaffi.org/wp-content/uploads/GAFFI-Leaflet-June-2016-DWD-hidden-crisis.pdf>, staženo 28. 11. 2019.
7. Denning D. W., Pleuvry A., Cole D. C.: *Bull. W. H. O.* 89, 864 (2011).
8. https://www.who.int/tb/publications/global_report/en/, staženo 28. 11. 2019.
9. Herkel T. a 22 spoluautorů: *Biomed. Pap.* 160, 448 (2016).
10. Bodro M., Gudiol C., Garcia-Vidal C., Tubau F., Contra A., Boix L., Domingo-Domenech E., Calvo M., Carratala J.: *Support. Care Cancer* 22, 603 (2014).
11. Kaleta E. J., Clark A. E., Cherkaoui A., Wysocki V. H., Ingram E. L., Schrenzel J., Wolk D. M.: *Clin. Chem.* 57, 1057 (2011).
12. Weiss V. U. a 12 spoluautorů: *Anal. Bioanal. Chem.* 411, 5951 (2019).
13. Delalande L., Tsvetkova I. B., Zeng C., Bond K., Jarrold M. F., Dragnea B.: *Nanoscale* 8, 16221 (2016).
14. McKnight K. L., Xie L., Gonzalez-Lopez O., Rivera-Serrano E. E., Chen X., Lemon S. M.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 114, 6587 (2017).
15. Benevento M., Di Palma S., Snijder J., Moyer C. L., Reddy V. S., Nemerow G. R., Heck A. J. R.: *J. Biol. Chem.* 289, 11421 (2014).
16. Abel K., Deschmer H., Peterson J. I.: *J. Bacteriol.* 85, 1039 (1963).
17. Anhalt J. P., Fenselau C.: *Anal. Chem.* 47, 219 (1975).
18. Havlíček V., Lemr K., v knize: *Rapid Characterization of Microorganisms by Mass Spectrometry*. (Fenselau C., Demirev P., ed.), str. 51. ACS, Washington DC 2011.
19. Martiny D., Busson L., Wybo I., Ait El Haj R., Dediste A., Vandenberg O.: *J. Clin. Microbiol.* 50, 1313 (2012).
20. Havlíček V., Lemr K., Schug K. A.: *Anal. Chem.* 85, 790 (2013).
21. Demirev P. A., Hagan N. S., Antoine M. D., Lin J. S., Feldman A. B.: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 24, 1194 (2013).
22. Van Dijck P. a 39 spoluautorů: *Microb. Cell* 5, 300 (2018).
23. Bebbler D. P., Holmes T., Gurr S. J.: *Global Ecol. Biogeogr.* 23, 1398 (2014).
24. Brown G. D., Denning D. W., Gow N. A. R., Levitz S. M., Netea M. G., White T. C.: *Sci. Transl. Med.* 4, 165rv13 (2012).
25. Bertrand S., Schumpp O., Bohni N., Monod M., Gindro K., Wolfender J.-L.: *J. Nat. Prod.* 76, 1157 (2013).
26. Moree W. J. a 10 spoluautorů: *J. Chem. Ecol.* 39, 1045 (2013).

27. Watrous J. a 13 spoluautorů: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 109, E1743 (2012).
28. Patel A. V., Kawai T., Wang L. P., Rubakhin S. S., Sweedler J. V.: Anal. Chem. 89, 12375 (2017).
29. Lita A., Kuzmin A. N., Pliss A., Baev A., Rzhetskii A., Gilbert M. R., Larion M., Prasad P. N.: Anal. Chem. 91, 11380 (2019).
30. Kapono C. A. a 14 spoluautorů: Sci. Rep. 8, 3669 (2018).
31. Floros D. J., Petras D., Kapono C. A., Melnik A. V., Ling T. J., Knight R., Dorrestein P. C.: Front. Plant Sci. 8, 429 (2017).
32. Bouslimani A. a 18 spoluautorů: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 112, E2120 (2015).
33. Knight R. a 22 spoluautorů: Nat. Rev. Microbiol. 16, 410 (2018).
34. Nakatsuji T. a 23 spoluautorů: Sci. Transl. Med. 9, eaah4680 (2017).
35. Škríba A., Pluháček T., Palyzová A., Nový Z., Lemr K., Hajdúch M., Petřík M., Havlíček V.: Front. Microbiol. 9, 2356 (2018).
36. Petřík M., Umlaufová E., Raclavský V., Palyzová A., Havlíček V., Haas H., Nový Z., Doležal D., Hajdúch M., Decristoforo C.: Sci. Rep. 8, 15698 (2018).
37. Pluháček T., Škríba A., Novák J., Luptáková D., Havlíček V., v knize: *Metabolomics: Methods and Protocols* (Bhattacharya S. K., ed.), str. 131. Springer Science, New York 2019.
38. Sass G. a 11 spoluautorů: J. Bacteriol. 200, UNSP e00345-17 (2018).
39. Kaur J., Pethani B. P., Kumar S., Kim M., Sunna A., Kautto L., Penesyan A., Paulsen I. T., Nevalainen H.: Front. Microbiol. 6, 866 (2015).
40. Finegold S. M., Downes J., Summanen P. H.: Anaerobe 18, 260 (2012).
41. Sgritta M., Dooling S. W., Buffington S. A., Momin E. N., Francis M. B., Britton R. A., Costa-Mattioli M.: Neuron 101, 246 (2019).
42. Yasin Y. J., Banoub J. A. M., Hussein A.: Lancet 392, 1736 (2019).
43. Ordonez A. A., Sellmyer M. A., Gowrishankar G., Ruiz-Bedoya C. A., Tucker E. W., Palestro C. J., Hammoud D. A., Jain S. K.: Sci. Transl. Med. 11, eaax8251 (2019).
44. Dye C.: Philos. Trans. R. Soc., B 369, 20140055 (2014).
45. Colebunders R., Jacob S. T., Arien K. K., De Weggheleire A., Decroo T.: Lancet Infect. Dis. 17, 1021 (2017).

A. Palyzová and V. Havlíček (*Institute of Microbiology of the Czech Academy of Sciences, Prague*): **Mass Spectrometry in Infectious Disease Diagnostics**

In this review we summarize the most recent application of mass spectrometry in infection diagnostics. The current approaches used in the analysis of viruses, bacteria and filamentous fungi are emphasized. We conclude that the development of new analytical approaches, including the application of microbial siderophores in early infection diagnostic, might help to compensate the projected increase of infectious diseases by the acquired resistance of microorganisms to current known antibiotics, antimycotics and virostatics.

Keywords: microbiology, infectious diseases, mass spectrometry, bacteria, filamentous fungi, siderophores

Acknowledgements

This work was supported by Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (LO1509), and the Czech Science Foundation (19-10907S).