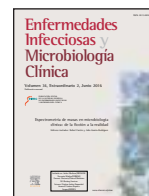




Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Utilización de MALDI-TOF en el diagnóstico rápido de la sepsis

Juan Carlos Rodríguez^{a,b,*}, Miguel Ángel Bratos^{c,d}, Esperanza Merino^e y Carmen Ezpeleta^f

^aServicio de Microbiología, Hospital General Universitario de Alicante, Alicante, España

^bÁrea de Microbiología, Universidad Miguel Hernández, Elche, Alicante, España

^cServicio de Microbiología, Hospital Clínico Universitario de Valladolid, Valladolid, España

^dFacultad de Medicina, Universidad de Valladolid, Valladolid, España

^eUnidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital General Universitario de Alicante, Alicante, España

^fServicio de Microbiología Clínica, Complejo Hospitalario de Navarra, Pamplona, España

RESUMEN

Palabras clave:

Espectrometría de masas

MALDI-TOF

Sepsis

Hemocultivo

Diagnóstico rápido

La introducción de la espectrometría de masas mediante MALDI-TOF (*matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight*) en el diagnóstico de bacteriemias y fungemias supone una revolución por la rapidez y fiabilidad de los resultados que pueden ofrecer los servicios y laboratorios de microbiología mediante el análisis del espectro proteico bacteriano directamente a partir del frasco de hemocultivo positivo. Estos datos son más útiles si se integran con otras técnicas capaces de ofrecer el patrón de resistencia antibiótica del microorganismo. Debe llevarse a cabo un proceso de estandarización de los protocolos de procesamiento de las muestras y perfeccionar la identificación de los agentes causales de bacteriemias, especialmente de algunas especies de cocos grampositivos y en los procesos polimicrobianos. La introducción de esta metodología proporciona una información precoz muy importante para el manejo clínico de las bacteriemias. Si el hospital dispone de un grupo de trabajo multidisciplinar que aplica de forma rápida y correcta toda esta información, mejorará la calidad de la atención sanitaria del paciente, disminuirá el gasto en antibióticos y la estancia hospitalaria, y contribuirá a controlar el grave problema de la resistencia a los antibióticos.

© 2016 Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Use of MALDI-TOF in the rapid diagnosis of sepsis

ABSTRACT

Keywords:

Mass spectrometry

MALDI-TOF

Sepsis

Blood culture

Rapid diagnosis

The introduction of mass spectrometry through MALDI-TOF (*matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight*) in the diagnosis of bacteraemia and fungaemia has represented a revolution due to the rapidity and reliability of the results that it can offer to microbiology services and laboratories through analysis of the mass spectrum of the bacterial protein directly from positive blood culture bottles. These data are more useful if they are used in conjunction with other techniques able to identify the antibiotic resistance pattern of the microorganism. There is a need for a process of standardising sample processing protocols and for perfecting the identification of the agents causing bacteraemia, especially in some species of Gram-positive cocci and in polymicrobial processes. The introduction of this methodology provides rapid information that is highly important for the clinical management of bacteraemia. The availability of a multidisciplinary working group that applies all this information quickly and correctly in hospitals will improve the quality of care, reduce antibiotic expenditure and hospital stay and help to control the serious problem of antibiotic resistance.

© 2016 Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: rodriguez_juadia@gva.es (J.C. Rodríguez).

Introducción

El diagnóstico microbiológico de las bacteriemias y fungemias ha cambiado de forma radical en las últimas décadas; tradicionalmente se basaba en métodos de tinción y cultivo de los microorganismos pero poco a poco se han introducido métodos basados en la detección del genoma y más recientemente en la caracterización del proteoma microbiano. La aplicación de la espectrometría de masas (EM) MALDI-TOF (*matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight*) a la microbiología clínica ha supuesto una revolución en muchos ámbitos debido a su rapidez y fiabilidad a la hora de identificar microorganismos. Su uso en el diagnóstico rápido de las bacteriemias y fungemias puede ser muy útil en la práctica clínica, debido a la gravedad de estos procesos, con elevadas tasas de morbilidad y mortalidad.

Tradicionalmente, la lentitud de los procedimientos diagnósticos suponía que los facultativos responsables de los pacientes se veían obligados a instaurar tratamientos empíricos en función de los datos clínicos, epidemiológicos y de tinción; y solo al cabo de muchas horas o días, se podía ajustar el tratamiento en función de los datos del cultivo. La instauración de técnicas rápidas aún no permite, en la mayoría de los casos, evitar los tratamientos empíricos pero sí disminuir su duración, ofreciendo datos que permiten ajustar los tratamientos precozmente, con el consiguiente beneficio para el paciente, disminución del gasto sanitario y control de la resistencia antibiótica¹⁻³.

El objetivo de este trabajo es revisar la situación del diagnóstico microbiológico de bacteriemias y fungemias tras la instauración de la EM, así como plantear su utilidad clínica de forma integrada con otros métodos diagnósticos disponibles en los servicios de microbiología clínica.

Aspectos técnicos

La introducción de MALDI-TOF en la práctica clínica habitual ha producido una importante disminución del tiempo de respuesta microbiológica, pasando de días a horas, lo que ha hecho que su utilización se esté extendiendo rápidamente y que cada día se amplíe a más protocolos diagnósticos: desde la identificación bacteriana inicial a partir de la muestra directamente o de las colonias crecidas en los medios de cultivo sólidos a la identificación de micobacterias, levaduras y hongos filamentosos.

La aplicación de MALDI-TOF sobre muestras de hemocultivos positivos en pacientes con bacteriemia o fungemia es uno de los escenarios más complicados desde el punto de vista técnico. Presenta más dificultades que cuando se aplica directamente sobre bacterias aisladas en medios de cultivo sólidos a causa de la baja carga microbiana, y por la alteración de los espectros proteicos bacterianos por interferencias con el medio por la presencia de proteínas humanas, células sanguíneas y carbón en el frasco de hemocultivo⁴⁻⁸.

Debido a estas limitaciones, no existe un único protocolo establecido y validado sobre el modo de procesar estas muestras⁹. En general, los procedimientos tratan de eliminar sustancias que interfieren en el proceso y concentran las bacterias, generalmente mediante centrifugación. Hay un sistema comercial de procesamiento de estas muestras (Bruker Sepsityper) que facilita el proceso y ofrece buenos resultados^{10,11}. Otra limitación del procedimiento es la posible presencia de patógenos no incluidos en la base de datos. En las nuevas versiones se va mejorando el análisis bioinformático de los espectros proteicos y se amplía su cobertura. En la tabla 1 se detallan los procedimientos más comúnmente utilizados^{1,2,5-7,12-44}. Existen 3 sistemas comercializados; Microflex LT Biotyper (Bruker Daltonics), VITEK MS IVD (bioMérieux) y MALDI microMX (Waters Corporation), aunque el primero es el más utilizado en la práctica clínica. Estudios comparativos de los 2 primeros muestran que ambos logran identificar los patógenos asociados a infecciones monomicrobianas en más del 90% de los casos^{33,45}.

El aspecto más problemático técnicamente es la identificación de cocos grampositivos; existen muchos estudios que muestran protocolos y resultados muy discrepantes tanto en sensibilidad como en especificidad en función de los procedimientos empleados y en los criterios establecidos para considerar una identificación como correcta^{34,46,47}. La fiabilidad de la identificación de *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus mitis* y *Streptococcus oralis* es cuestionable, ya que frecuentemente estos se identifican erróneamente como *S. pneumoniae*⁴⁸. Para tratar de solucionar este problema, se ha desarrollado el software ClinProTools (Bruker Daltonics), que discrimina los espectros de los diferentes patógenos con elevada sensibilidad y especificidad⁴⁹.

La identificación correcta de las enterobacterias se realiza en la práctica totalidad de los casos. La capacidad de MALDI-TOF para la correcta identificación de bacilos gramnegativos no fermentadores es algo menor^{35,36}. De la misma forma, es muy útil para identificar levaduras directamente en el hemocultivo^{37,50} pero presenta mejores resultados con *Candida albicans* en relación con la identificación de otras especies de levaduras³⁸.

Esta técnica es especialmente útil en la identificación de microorganismos de cultivo difícil o lento (bacterias anaerobias, *Actinomyces*, bacilos gramnegativos de crecimiento lento, etc.) ya que supera problemas existentes en los protocolos de cultivo, siempre que estos estén incluidos en la base de datos del sistema⁵¹. También ha mostrado gran utilidad en la identificación rápida de bacterias con gran patogenicidad como *Bacillus anthracis*, *Brucella melitensis*, *Francisella tularensis* o *Yersinia pestis*^{52,53} y se han desarrollado protocolos específicos de bioseguridad⁵⁴.

Por el contrario, presenta muchas limitaciones en la identificación de bacteriemias polimicrobianas, aunque hay diferencias en función de los procedimientos empleados^{39,42}. Recientemente se ha perfeccionado el análisis bioinformático de perfiles proteicos mixtos con mejores resultados⁵⁵.

En relación con el grado de fiabilidad de la identificación mediante este sistema, el fabricante de Microflex LT Biotyper (Bruker Daltonics) considera una identificación adecuada a nivel de género si la muestra presenta un *spectral score* comprendido entre 1.700 y 1.999 (parámetro que indica el grado de correlación entre el espectro obtenido y los valores de la base de datos del equipo), exigiendo para la identificación correcta de especie un valor superior a 2.000⁴⁰. Con objeto de mejorar la sensibilidad diagnóstica, algunos autores han planteado la posibilidad de disminuir la exigencia técnica de esta correlación, considerando una identificación como fiable incluso con valores de 1.300-1.500^{35,41}. Esta estrategia, aunque mejora la sensibilidad de la técnica al lograr un mayor número de identificaciones, no está exenta de riesgo y debe manejarse con extremada precaución, analizando los datos en función de la clínica del paciente y del resultado de otras pruebas microbiológicas.

El protocolo habitual es la realización de MALDI-TOF a partir del frasco de hemocultivo positivo. Para esta positivización es necesaria la presencia de entre 10^7 y 10^8 unidades formadoras de colonias (UFC)/ml de medio de cultivo mientras que se pueden obtener resultados con MALDI-TOF con inóculos menores (10^7 UFC/ml), por lo que se han desarrollado modelos experimentales que muestran resultados positivos entre 1,7 y 2,3 h antes de que se positivice el hemocultivo⁵⁶; sin embargo, todavía debe analizarse con más precisión para conocer su verdadera importancia clínica.

Integración de la identificación de MALDI-TOF con otras técnicas

Tradicionalmente, el diagnóstico de las bacteriemias y fungemias se ha realizado mediante cultivo, pero esta técnica presenta una importante limitación por la lentitud en la emisión de resultados; por contra, se pueden aislar múltiples patógenos tanto bacterianos como fúngicos siempre que se empleen los medios de cultivo y las técnicas microbiológicas adecuadas. En las últimas décadas se han desarrolla-

Tabla 1

Diferentes protocolos de procesamiento de los hemocultivos

Referencia	Método	Sensibilidad (%)
Rodríguez-Sánchez et al ¹	Lavados y etanol/fórmico	Global (81,4)
Schmidt et al ⁵	Lavados y ácido fórmico (diferentes frascos de hemocultivos)	CGP (5,4-60), BGN (47,1-86,6)
Konnerth et al ¹²	Lavados	CGP (51,2), BGN (87,2), levaduras (0)
Paolucci et al ¹³	Lavados, SDS ácido fórmico	Levaduras (40,9)
Leli et al ¹⁴	Lavados, <i>tween</i> 80, etanol, ácido fórmico/acetronitrilo	CGP (85,5), BGN (96,9), levaduras (0)
Thomin et al ¹⁵	Lavados, solución de lisis, saponinas	CGP (78,0), BGN (> 95)
Mestas et al ¹⁶	Lavados, <i>buffer</i> , lisis, eritrocitos y fórmico	CGP (78,4), BGN (90,3)
Wüppenhorst et al ¹⁸	Lavados, saponina y separación en columna	<i>Staphylococcus</i> spp. (78,5), <i>Streptococcus</i> spp./ <i>Enterococcus</i> spp. (41,2), enterobacterias (96,9), BGN-NF (80,0)
Bille et al ¹⁹	Lavados, saponina y ácido trifluoroacético	CGP (92), BGN (92,7)
Hoyos-Mallecot et al ³⁴	Lavados, SDS, ácido fórmico	CGP (73,3), BGN (96,0)
Bidart et al ³⁷	Lavados, SDS, ácido fórmico/acetronitrilo	Levaduras (88,8)
March-Rosselló et al ³⁵	Lavados y etanol/fórmico	CGP (98,4)
Romero-Gómez et al ³⁶	Lavados y etanol/fórmico	<i>Staphylococcus aureus</i> (75,8), <i>Enterococcus</i> spp. (63,3), enterobacterias (97,7), BGN-NF (75,0)
Juiz et al ²	Sepsityper	<i>Staphylococcus</i> spp. (84,6), <i>Enterococcus</i> spp. (85,7), enterobacterias (94,7)
Jamal et al ¹⁷		CGP (63,1), BGN (66,0)
Riederer et al ²⁰		BGN (78,1)
Egli et al ²¹		<i>Staphylococcus aureus</i> (100), <i>Staphylococcus</i> spp. (60,0), <i>Enterococcus faecium</i> (100), enterobacterias (92,6)
Schieffer et al ²²		<i>Staphylococcus</i> spp. (95,0), <i>Streptococcus</i> spp. (68,0), <i>Enterococcus</i> spp. (92,6), enterobacterias (96,7), BGN-NF (50), anaerobios (28,6), levaduras (40)
Saffert et al ²³		<i>Staphylococcus</i> spp. (75,0), <i>Streptococcus</i> spp./ <i>Enterococcus</i> spp. (78,0), BGN (83,0)
Idelevich et al ²⁴		Levaduras (62,5)
Morgenthaler y Kostrzewa ²⁵ (metaanálisis)		CGP (76,0), BGN (90,0), levaduras (66,0)
Chen et al ³³		CGP (72,0), BGN (88,7)
Bidart et al ³⁷		Levaduras (81,7)
Schubert et al ³⁹		CGP (86,3), BGN (89,8), levaduras (70,6)
Kok et al ⁴⁰		CGP (46,3), BGN (79,7)
Meex et al ⁴²		CGP (58,5), BGN (82,5)
Klein et al ⁴³		CGP (73,0), BGN (99,0)
Martiny et al ⁴⁴		CGP (74,3), BGN (59,1)
Idelevich et al ²⁴	Cultivo previo en medio sólido	CGP (64), BGN (76,2-97,6)
Kohlmann et al ²⁶		CGP (68,4), BGN (97,6)
Zabbe et al ²⁷		<i>Staphylococcus</i> spp. (66), <i>Enterococcus</i> spp. (100), <i>Streptococcus</i> spp. (86,7), enterobacterias (92), <i>Pseudomonas</i> spp. (80), levaduras (12,5)
Bhatti et al ²⁸		CGP (98), BGN (94)
Gray et al ²⁹	Lisis y ácido fórmico	Enterobacterias (90,9), BGN-NF (80), otros BGN (75)
Riederer et al ²⁰	Centrifugación, filtración y ácido fórmico	BGN (94,7)
Fuglsang-Damgaard et al ⁴¹	EDTA	<i>Staphylococcus</i> spp. (52), <i>Enterococcus</i> spp. (50), <i>Streptococcus</i> spp. (20), enterobacterias (91), BGN-NF (81)
Fiori et al ⁶	Centrifugación diferencial	CGP (81,3-95,6), BGN (89-100), levaduras (71-72)
Saffert et al ²³		<i>Staphylococcus</i> spp. (44), <i>Streptococcus</i> spp./ <i>Enterococcus</i> spp. (77), BGN (91), levaduras (0)
Vlek et al ³⁰		CGP (53), BGN (86,9)
Saffert et al ²³	SDS	<i>Staphylococcus</i> spp. (75), <i>Streptococcus</i> spp./ <i>Enterococcus</i> spp. (72), BGN (89)
Meex et al ⁴²	Saponinas	CGP (58,2), BGN (90,0)
Martiny et al ⁴⁴		CGP (68,6), BGN (81,8)
Fothergill et al ⁷	Lisis y filtración	CGP (77,5), BGN (82,4), levaduras (83,3)
Machen et al ³¹		GP (97,9), BGN (95,9)
Foster ³²	Centrifugación y detergente	<i>Staphylococcus</i> spp. (99,2), <i>Streptococcus</i> spp. (38,5), <i>Enterococcus</i> spp. (100), enterobacterias (92,5), BGN-NF (52,4)
Spanu et al ³⁸		Levaduras (91,3)

BGN: bacilos gramnegativos; BGN-NF: bacilos gramnegativos no fermentadores; CGP: cocos grampositivos; EDTA: ácido etilendiaminotetraacético; SDS: docecilsulfato sódico.

do diferentes técnicas de microbiología molecular capaces de disminuir el tiempo de respuesta en el diagnóstico de estos procesos, aspecto clave en la utilidad clínica de los resultados microbiológicos. Estos sistemas, basados en la detección del genoma de los patógenos, presentan la importante limitación de que solo están diseñados para detectar un número muy reducido de estos. La incorporación de la proteómica, a través de MALDI-TOF, complementa ambas tecnologías y permite diagnosticar un gran número de patógenos con una gran rapidez. Este proceso mejora día a día al incrementarse la base de datos de microorganismos que pueden ser detectados. Lamentablemente, aún no es útil clínicamente para detectar los mecanismos de resistencia de las bacterias, imprescindibles para conocer los perfiles de sensibilidad de estas, aunque hay estudios que muestran que también podría tener esta capacidad^{57,58}.

En relación con el diagnóstico de las bacteriemias, la aplicación de MALDI-TOF ha supuesto un cambio trascendental a la hora de aumentar la utilidad clínica de los estudios microbiológicos y se ha buscado la sinergia con otras técnicas integrando sus resultados dentro del proceso diagnóstico. Así, en relación con las bacteriemias por cocos grampositivos, los resultados son óptimos en el manejo de las infecciones por *Staphylococcus aureus*, ya que junto con la detección molecular de la resistencia a la metilicina se puede ofrecer al clínico información útil sobre la terapia en pocas horas⁵⁹. Asimismo, se ha comunicado que la utilización conjunta de ambas técnicas supone una disminución del número de pacientes que reciben cobertura antibiótica frente a *S. aureus* resistente a metilicina (SARM) (el 17,1 frente al 29,2%)⁶⁰.

Se ha comunicado frecuentemente que hay problemas en la diferenciación entre *S. pneumoniae* y especies del grupo *viridans*^{48,49}, pero la tinción de Gram y la detección de antígenos de *S. pneumoniae* directamente en el hemocultivo positivo pueden paliar en parte este problema.

La gran fiabilidad en la identificación de bacilos gramnegativos es la mayor potencialidad de MALDI-TOF, ya que permite identificar rápidamente las infecciones por especies bacterianas frecuentemente asociadas a multiresistencia como *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* o *Stenotrophomonas maltophilia*. En función de esta información pueden aplicarse métodos moleculares de detección de mecanismos de resistencia antibiótica (carbapenemasas o betalactamasas de espectro extendido) o pruebas fenotípicas rápidas para conocer el patrón de resistencia antibiótica^{61,62}.

Cada servicio de microbiología debe integrar las técnicas disponibles en su proceso diagnóstico tanto en la identificación de los patógenos como en los estudios de detección de resistencia antibiótica, tanto por procedimientos fenotípicos como genotípicos, siendo prioritarios los sistemas de detección de SARM, enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido y bacilos gramnegativos productores de carbapenemasas (fig. 1).

Recientemente se ha desarrollado un nuevo sistema de diagnóstico rápido —denominado IRIDICA (Abbott)— que detecta la presencia de microorganismos directamente a partir de la sangre del paciente, combinando técnicas de amplificación y detección por EM. No obstante, aunque los primeros resultados son esperanzadores, tiene que validarse para confirmar su utilidad clínica⁶³.

Importancia clínica

La sepsis es la principal causa de mortalidad en pacientes hospitalizados y su incidencia mundial estimada es de 19 millones de personas/año. Debido a que puede ser causada por múltiples patógenos, el diagnóstico rápido es crucial, ya que la terapia antibiótica correcta se correlaciona con mejor evolución clínica. Aunque el abordaje diagnóstico y terapéutico con el desarrollo de guías específicas como la Survival Campaign Sepsis ha permitido una reducción de la mortalidad, esta actualmente supera el 30% en la mayor parte de las publica-

ciones^{43,64}. La utilización de antibióticos adecuados de forma precoz es una de las bases que influye directamente en el pronóstico, con impacto directo demostrado en la supervivencia, que decrece en función de cada hora de retraso en la administración de la antibioterapia⁶⁵. Para minimizar este riesgo —y ante el incremento progresivo de la incidencia de microorganismos resistentes a los antibióticos, que aumenta la dificultad de la elección correcta del tratamiento antimicrobiano adecuado— el clínico puede recurrir a la utilización de antibioterapia empírica de amplio espectro con la finalidad de asegurar la adecuación de esta. Esto puede facilitar la selección de cepas resistentes que minimicen el arsenal terapéutico, y por tanto comprometan el tratamiento futuro de otros pacientes. Solo tras la identificación de los microorganismos y de sus patrones de susceptibilidad, podrá realizarse una reducción del espectro antimicrobiano de la terapia utilizada, como recomiendan las guías, en función de los datos microbiológicos obtenidos, garantizando la adecuada cobertura y minimizando el impacto ecológico, aunque con la utilización de los métodos clásicos de la microbiología esto puede retrasarse varios días^{66,67}.

Aunque actualmente la microbiología clínica ha mejorado notablemente en rapidez diagnóstica, todavía no tiene capacidad técnica para ofrecer resultados lo suficientemente rápidos como para que el clínico pueda poner tratamiento de estos procesos en función de estos, por lo que en la gran mayoría de los casos deben ponerse tratamientos empíricos. La utilidad clínica de los resultados microbiológicos depende de que la información sea lo suficientemente rápida y precisa para permitir que se pueda ajustar el tratamiento del paciente lo más rápidamente posible, permitiendo acortar el tiempo de tratamiento antibiótico empírico y minimizar su impacto tanto a nivel clínico, mejorando la adecuación del tratamiento antibiótico y por tanto obteniendo mejores resultados, como a nivel ecológico; y en este avance, MALDI-TOF es uno de los pilares clave.

El impacto de las técnicas microbiológicas rápidas debe reflejarse directamente en la rapidez de la administración del tratamiento al paciente. La influencia en la elección del tratamiento, y por tanto en el pronóstico del paciente, se deberá basar en la creación de equipos clínicos capaces de realizar e interpretar de forma correcta los resultados microbiológicos junto con los profesionales que realicen la elección adecuada del tratamiento antibiótico. Además, debe existir una comunicación rápida entre todos los miembros para que la rapidez de los resultados microbiológicos se traduzca en la administración del tratamiento al paciente⁶⁸.

Cada hospital debe establecer su protocolo de trabajo en función de sus capacidades técnicas y humanas, patrones de resistencia locales, etc. Así, desde el desarrollo de MALDI-TOF, diferentes estudios han demostrado cómo la implicación de equipos de bacteriemias o PROA (programas de optimización de uso de antimicrobianos) —*stewardship*—, basados en las 2 características anteriores, demuestra impacto directo en parámetros clínicos. Clerc et al⁶⁹ analizaron bacteriemias por bacilos gramnegativos en un área con baja prevalencia de cepas productoras de betalactamasas de espectro extendido y de carbapenemasas y comunicaron que la tinción de Gram tuvo impacto clínico, ya que permitió el ajuste del tratamiento en el 20,8% de los casos; también señalan que la información proporcionada por MALDI-TOF, 2 o 3 h después, conllevó el cambio de tratamiento empírico en el 35,1% de los casos. Otro estudio muestra que el uso del MALDI-TOF supone un 11,3% de incremento en el número de pacientes que reciben tratamiento antibiótico correcto en las primeras 24 h tras la positividad del hemocultivo (64,0% en el grupo control frente al 75,3% en el grupo sobre el que se intervino)⁷⁰. Huang et al⁷¹ comunican que se produce una disminución en el tiempo de identificación del microorganismo causante del proceso (84,0 frente a 55,9 h), en el tiempo de terapia efectiva (30,1 frente a 20,4 h) y de terapia óptima (90,3 frente a 47,3 h). También informan que se logra disminuir la mortalidad, el tiempo de estancia en unidades de críticos y las bacteriemias recurrentes. Estudios semejantes se han desarrollado en pediatría, también con buenos resultados^{72,73}.

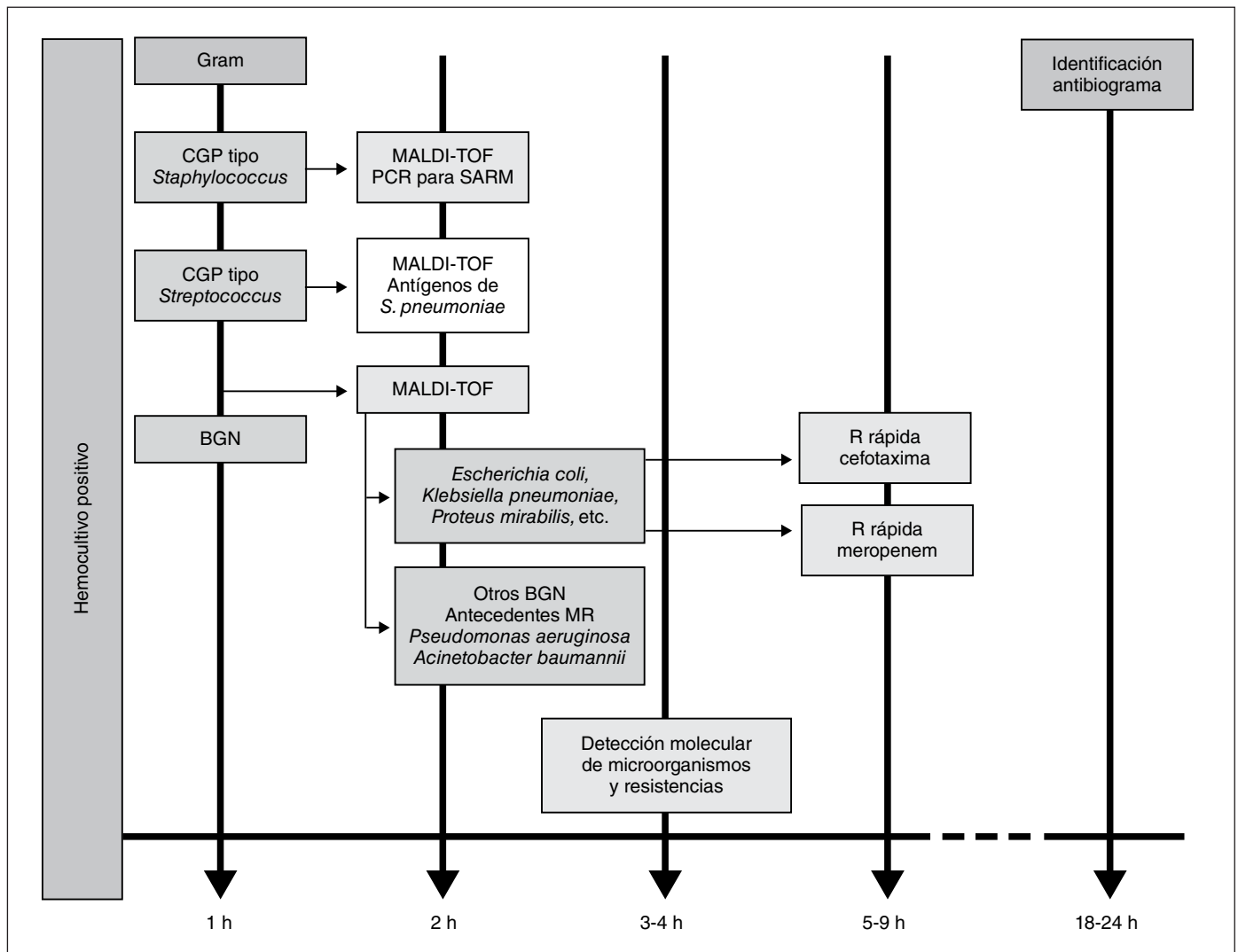


Figura 1. Integración de MALDI-TOF y otras técnicas microbiológicas. BGN: bacilos gramnegativos; CGP: cocos grampositivos; MALDI-TOF: *matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight*; MR: multiresistente; PCR: reacción en cadena de la polimerasa; R: resistencia; SARM: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina.

Este ajuste óptimo del tratamiento se refleja también en *endpoints* clínicos, como mortalidad o estancia hospitalaria. Así, Pérez et al⁷⁴ analizan un período previo y otro posterior a la implantación de un programa de integración entre técnicas rápidas —incluyendo MALDI-TOF y un equipo de PROA— y demuestran una reducción de la estancia en unidades de cuidados intensivos, la estancia hospitalaria, los costes hospitalarios totales y la mortalidad a los 30 días por cualquier causa. También en bacteriemias por *Staphylococcus* spp., la integración de MALDI-TOF con un equipo PROA demuestra impacto clínico en un estudio cuasiexperimental; así, la rápida y adecuada identificación de los microorganismos permitió identificar de forma precoz los contaminantes y reducir el tratamiento antimicrobiano inadecuado con vancomicina⁷⁵.

Además de todas las ventajas en la mejora del tratamiento de los pacientes, la disposición de técnicas rápidas permite diseñar protocolos de terapia empírica basados en combinación de antibióticos, ya que los efectos negativos de esta (toxicidad, aumento de coste e impacto ecológico) se minimizarán al poder realizarse una rápida adecuación del tratamiento en función de los resultados microbiológicos⁷⁶.

Hay pocos estudios concluyentes en relación con el coste económico, aunque esta metodología es barata si se exceptúa el coste del

espectrómetro de masas; su inclusión en cada centro debe valorarse en función de las características de este, incluyendo los datos del ahorro que genera como consecuencia de la mejora en el uso de los antibióticos, disminución de las estancias, etc. Pérez et al⁷⁷ comunican que la utilización de MALDI-TOF dentro de un grupo PROA produjo una reducción de las estancias medias hospitalarias y en unidades de cuidados intensivos y, por tanto, una disminución significativa de los costes hospitalarios. Otros autores llegan a resultados similares⁷⁸⁻⁷⁹.

Conclusiones

Por la gravedad de las bacteriemias y fungemias, la utilización del MALDI-TOF para el diagnóstico rápido puede considerarse una de sus aplicaciones más útiles en la práctica clínica. A pesar de esta evidente utilidad, hay lagunas metodológicas en la aplicación de MALDI-TOF en los hemocultivos positivos, lo que limita su utilidad clínica en las bacteriemias polimicrobianas y en los procesos asociados a algunas bacterias grampositivas, por lo que es clave la estandarización de la técnica de aplicación. Es necesario realizar una evaluación a gran escala para poder establecer su verdadero potencial diagnóstico. Los grupos multidisciplinarios de trabajo para sepsis y bacteriemia —que

pueden tomar medidas clínicas rápidas y adecuadas para el correcto manejo del paciente basadas en los resultados obtenidos con MALDI TOF— mejoran la calidad de la atención sanitaria y son necesarios para rentabilizar el gran potencial de esta nueva tecnología⁸⁰.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Rodríguez-Sánchez B, Sánchez-Carrillo C, Ruiz A, Marín M, Cercenado E, Rodríguez-Crêixems M, et al. Direct identification of pathogens from positive blood cultures using matrix-assisted laser desorption-ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20:O421-7.
- Juiz PM, Almela M, Melción C, Campo I, Esteban C, Pitart C, et al. A comparative study of two different methods of sample preparation for positive blood cultures for the rapid identification of bacteria using MALDI-TOF MS. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2012;31:1353-8.
- Loonen AJ, Wolffs PF, Bruggeman CA, Van den Brule AJ. Developments for improved diagnosis of bacterial bloodstream infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2014;33:1687-702.
- Wüppenhorst N, Consoir C, Lörch D, Schneider C. Direct identification of bacteria from charcoal-containing blood culture bottles using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2012;31:2843-50.
- Schmidt V, Jarosch A, März P, Sander C, Vacata V, Kalka-Moll W. Rapid identification of bacteria in positive blood culture by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2012;31:311-7.
- Fiori B, D'Inzeo T, Di Florio V, De Maio F, De Angelis G, Giaquinto A, et al. Performance of two resin-containing blood culture media in detection of bloodstream infections and in direct matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) broth assays for isolate identification: clinical comparison of the Bact/Alert Plus and Bactec Plus systems. *J Clin Microbiol.* 2014;52:3558-67.
- Fothergill A, Kasinathan V, Hyman J, Walsh J, Drake T, Wang YF. Rapid identification of bacteria and yeasts from positive-blood-culture bottles by using a lysis-filtration method and matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrum analysis with the SARAMIS database. *J Clin Microbiol.* 2013;51:805-9.
- Kroumova V, Gobbato E, Basso E, Mucedola L, Giani T, Fortina G. Direct identification of bacteria in blood culture by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry: a new methodological approach. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2011;25:2247-9.
- La Scola B. Intact cell MALDI-TOF mass spectrometry-based approaches for the diagnosis of bloodstream infections. *Expert Rev Mol Diagn.* 2011;11:287-98.
- Lagacé-Wiens PR, Adam HJ, Karlowsky JA, Nichol KA, Pang PF, Guenther J, et al. Identification of blood culture isolates directly from positive blood cultures by use of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry and a commercial extraction system: analysis of performance, cost, and turnaround time. *J Clin Microbiol.* 2012;50:3324-8.
- Kliem M, Sauer S. The essence on mass spectrometry based microbial diagnostics. *Curr Opin Microbiol.* 2012;15:397-402.
- Konnerth S, Rademacher G, Suerbaum S, Ziesing S, Sedlacek L, Vonberg RP. Identification of pathogens from blood culture bottles in spiked and clinical samples using matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry analysis. *BMC Res Notes.* 2014;7:405.
- Paolucci M, Foschi C, Tamburini MV, Ambretti S, Lazzarotto T, Landini MP. Comparison between MALDI-TOF MS and FilmArray Blood Culture Identification panel for rapid identification of yeast from positive blood culture. *J Microbiol Methods.* 2014;104:92-3.
- Leli C, Cenci E, Cardaccia A, Moretti A, D'Alò F, Pagliocchini R, et al. Rapid identification of bacterial and fungal pathogens from positive blood cultures by MALDI-TOF MS. *Int J Med Microbiol.* 2013;303:205-9.
- Thomin J, Aubin GG, Foubert F, Corvec S. Assessment of four protocols for rapid bacterial identification from positive blood culture pellets by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (Vitek® MS). *J Microbiol Methods.* 2015;115:54-6.
- Mestas J, Felsenstein S, Bard JD. Direct identification of bacteria from positive Bact/ALERT blood culture bottles using matrix-assisted laser desorption ionization-time-of-flight mass spectrometry. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2014;80:193-6.
- Jamal W, Saleem R, Rotimi VO. Rapid identification of pathogens directly from blood culture bottles by Bruker matrix-assisted laser desorption laser ionization-time of flight mass spectrometry versus routine methods. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2013;76:404-8.
- Wüppenhorst N, Consoir C, Lörch D, Schneider C. Direct identification of bacteria from charcoal-containing blood culture bottles using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2012;31:2843-50.
- Bille E, Dauphin B, Leto J, Bounoux ME, Beretti JL, Lotz A, et al. MALDI-TOF MS Andromas strategy for the routine identification of bacteria, mycobacteria, yeasts, *Aspergillus* spp. and positive blood cultures. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18:1117-25.
- Riederer K, Cruz K, Shemes S, Szpunar S, Fishbain JT. MALDI-TOF identification of Gram-negative bacteria directly from blood culture bottles containing charcoal: Sepsityper® kits versus centrifugation-filtration method. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2015;82:105-8.
- Egli A, Osthoff M, Goldenberger D, Halter J, Schaub S, Steiger J, et al. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF) directly from positive blood culture flasks allows rapid identification of bloodstream infections in immunosuppressed hosts. *Transpl Infect Dis.* 2015;17:481-7.
- Schieffer KM, Tan KE, Stamper PD, Somogyi A, Andrea SB, Wakefield T, et al. Multicenter evaluation of the Sepsityper™ extraction kit and MALDI-TOF MS for direct identification of positive blood culture isolates using the BD BACTEC™ FX and VersaTREK® diagnostic blood culture systems. *J Appl Microbiol.* 2014;116:934-41.
- Saffert RT, Cunningham SA, Mandrekar J, Patel R. Comparison of three preparatory methods for detection of bacteremia by MALDI-TOF mass spectrometry. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2012;73:21-6.
- Idelevich EA, Grunewald CM, Wüllenweber J, Becker K. Rapid identification and susceptibility testing of *Candida* spp. from positive blood cultures by combination of direct MALDI-TOF mass spectrometry and direct inoculation of Vitek 2. *PLoS One.* 2014;9:e114834.
- Morgenthaler NG, Kostrzewa M. Rapid identification of pathogens in positive blood culture of patients with sepsis: review and meta-analysis of the performance of the Sepsityper kit. *Int J Microbiol.* 2015;2015:827416.
- Kohlmann R, Hoffmann A, Geis G, Gatermann S. MALDI-TOF mass spectrometry following short incubation on a solid medium is a valuable tool for rapid pathogen identification from positive blood cultures. *Int J Med Microbiol.* 2015;305:469-79.
- Zabbe JB, Zanardo L, Mégraud F, Bessède E. MALDI-TOF mass spectrometry for early identification of bacteria grown in blood culture bottles. *J Microbiol Methods.* 2015;115:45-46.
- Bhatti MM, Boonlayangoo S, Beavis KG, Tesic V. Rapid identification of positive blood cultures by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry using prewarmed agar plates. *J Clin Microbiol.* 2014;52:4334-8.
- Gray TJ, Thomas L, Olma T, Mitchell DH, Iredell JR, Chen SC. Rapid identification of gram negative bacteria from blood culture broth using MALDI-TOF mass spectrometry. *J Vis Exp.* 2014;87:e51663.
- Vlek AL, Bonten MJ, Boel CH. Direct matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry improves appropriateness of antibiotic treatment of bacteremia. *PLoS One.* 2012;7:e32589.
- Machen A, Drake T, Wang YF. Same day identification and full panel antimicrobial susceptibility testing of bacteria from positive blood culture bottles made possible by a combined lysis-filtration method with MALDI-TOF VITEK mass spectrometry and the VITEK2 system. *PLoS One.* 2014;9:e87870.
- Foster AG. Rapid Identification of microbes in positive blood cultures by use of the Vitek MS matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry system. *J Clin Microbiol.* 2013;51:3717-9.
- Chen JH, Ho PL, Kwan GS, She KK, Siu GK, Cheng VC, et al. Direct bacterial identification in positive blood cultures by use of two commercial matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry systems. *J Clin Microbiol.* 2013;51:1733-9.
- Hoyos-Mallecot Y, Miranda-Casas C, Cabrera-Alvargonzalez JJ, Gómez-Camarasa C, Pérez-Ramírez MD, Navarro-Marí JM. Identificación bacteriana directamente del hemocultivo mediante una técnica rápida de espectrometría de masas Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionisation Time-of-Flight. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2013;31:152-5.
- March-Roselló GA, Muñoz-Moreno MF, García-Loygorri-Jordán de Urriés MC, Bratos-Pérez MA. A differential centrifugation protocol and validation protocol for enhancing mass spectrometry (MALDI-TOF) results in microbial identification using blood culture growth bottles. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2013;32:699-704.
- Romero-Gómez MP, Gómez-Gil R, Paño-Pardo JR, Mingorance J. Identification and susceptibility testing of microorganism by direct inoculation from positive blood culture bottles by combining MALDI-TOF and Vitek-2 Compact is rapid and effective. *J Infect.* 2012;65:513-20.
- Bidart M, Bonnet I, Hennebique A, Kherraf ZE, Pelloux H, Berger F, et al. An in-house assay is superior to Sepsityper for direct matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry identification of yeast species in blood cultures. *J Clin Microbiol.* 2015;53:1761-4.
- Spanu T, Posteraro B, Fiori B, D'Inzeo T, Campoli S, Ruggeri A, et al. Direct MALDI-TOF mass spectrometry assay of blood culture broths for rapid identification of *Candida* species causing bloodstream infections: an observational study in two large microbiology laboratories. *J Clin Microbiol.* 2012;50:176-9.
- Schubert S, Weinert K, Wagner C, Gunzl B, Wieser A, Maier T, et al. Novel, improved sample preparation for rapid, direct identification from positive blood cultures using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry. *J Mol Diagn.* 2011;13:701-6.
- Kok J, Thomas LC, Olma T, Chen SC, Iredell JR. Identification of bacteria in blood culture broths using matrix-assisted laser desorption-ionization Sepsityper™ and time of flight mass spectrometry. *PLoS One.* 2011;6:e23285.
- Fuglsang-Damgaard D, Nielsen CH, Mandrup E, Fuursted K. The use of Gram stain and matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry on positive blood culture: synergy between new and old technology. *APMIS.* 2011;119:681-8.
- Meex C, Neuville F, Descy J, Huynen P, Hayette MP, De Mol P, et al. Direct identification of bacteria from Bact/ALERT anaerobic positive blood cultures by

- MALDI-TOF MS: MALDI Sepsityper kit versus an in-house saponin method for bacterial extraction. *J Med Microbiol*. 2012;61:1511-6.
43. Klein S, Zimmermann S, Köhler C, Mischnik A, Alle W, Bode KA. Integration of matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry in blood culture diagnostics: a fast and effective approach. *J Med Microbiol*. 2012; 61:323-31.
 44. Martiny D, Debaugnies F, Gateff D, Gérard M, Aoun M, Martin C, et al. Impact of rapid microbial identification directly from positive blood cultures using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry on patient management. *Clin Microbiol Infect*. 2013;19:E568-81.
 45. Lee M, Chung HS, Moon HW, Lee SH, Lee K. Comparative evaluation of two matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) systems, Vitek MS and Microflex LT, for the identification of Gram-positive cocci routinely isolated in clinical microbiology laboratories. *J Microbiol Methods*. 2015;113:13-5.
 46. Schulthess B, Brodner K, Bloemberg GV, Zbinden R, Böttger EC, Hombach M. Identification of Gram-positive cocci by use of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry: comparison of different preparation methods and implementation of a practical algorithm for routine diagnostics. *J Clin Microbiol*. 2013;51:1834-40.
 47. Nonnemann B, Tvede M, Bjarsholt T. Identification of pathogenic microorganisms directly from positive blood vials by matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry. *APMIS*. 2013;121:871-7.
 48. Werno AM, Christner M, Anderson TP, Murdoch DR. Differentiation of *Streptococcus pneumoniae* from nonpneumococcal streptococci of the *Streptococcus mitis* group by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol*. 2012;50:2863-7.
 49. Ikryannikova LN, Filimonova AV, Malakhova MV, Savinova T, Filimonova O, Iliina EN, et al. Discrimination between *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus mitis* based on sorting of their MALDI mass spectra. *Clin Microbiol Infect*. 2013; 19:1066-71.
 50. Pulcrano G, Iula DV, Vollaro A, Tucci A, Cerullo M, Esposito M, et al. Rapid and reliable MALDI-TOF mass spectrometry identification of *Candida non-albicans* isolates from bloodstream infections. *J Microbiol Methods*. 2013;94:262-6.
 51. Biswas S, Rolain JM. Use of MALDI-TOF mass spectrometry for identification of bacteria that are difficult to culture. *J Microbiol Methods*. 2013;92:14-24.
 52. Drevinek M, Dresler J, Klimentova J, Pisa L, Hubalek M. Evaluation of sample preparation methods for MALDI-TOF MS identification of highly dangerous bacteria. *Lett Appl Microbiol*. 2012;55:40-6.
 53. Lista F, Reubsæet FA, De Santis R, Parchen RR, De Jong AL, Kieboom J, et al. Reliable identification at the species level of *Brucella* isolates with MALDI-TOF-MS. *BMC Microbiol*. 2011;11:267.
 54. Mesureur J, Ranaldi S, Monnin V, Girard V, Arend S, Welker M, et al. A simple and safe protocol for preparing *Brucella* samples for MALDI-TOF MS analysis. *J Clin Microbiol*. 2016; 54:449-52.
 55. Mahé P, Arsac M, Chatellier S, Monnin V, Perrot N, Mailler S, et al. Automatic identification of mixed bacterial species fingerprints in a MALDI-TOF mass-spectrum. *Bioinformatics*. 2014;30:1280-6.
 56. Wang MC, Lin WH, Yan JJ, Fang HY, Kuo TH, Tseng CC, et al. Early identification of microorganisms in blood culture prior to the detection of a positive signal in the BACTEC FX system using matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry. *J Microbiol Immunol Infect*. 2015;48:419-24.
 57. Patel R. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry in clinical microbiology. *Clin Infect Dis*. 2013;57:564-72.
 58. Opota O, Croxatto A, Prod'hom G, Greub G. Blood culture-based diagnosis of bacteraemia: state of the art. *Clin Microbiol Infect*. 2015;21:313-22.
 59. Romero-Gómez MP, Muñoz-Velez M, Gómez-Gil R, Mingorance J. Evaluation of combined use of MALDI-TOF and Xpert® MRSA/SA BC assay for the direct detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* from positive blood culture bottles. *J Infect*. 2013;67:91-2.
 60. Clerc O, Prod'hom G, Senn L, Jaton K, Zanetti G, Calandra T, et al. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry and PCR-based rapid diagnosis of *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *Clin Microbiol Infect*. 2015;20: 355-60.
 61. March GA, García-Loygorri MC, Simarro M, Gutiérrez MP, Orduña A, Bratos MA. A new approach to determine the susceptibility of bacteria to antibiotics directly from positive blood culture bottles in two hours. *J Microbiol Methods*. 2015;109:49-55.
 62. Almuhawawi M, Altun O, Strålin K, Ozenci V. Identification of microorganisms by FilmArray and matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry prior to positivity in the blood culture system. *J Clin Microbiol*. 2014;52:3230-6.
 63. Bacconi A, Richmond GS, Baroldi MA, Laffler TG, Blyn LB, Carolan HE, et al. Improved sensitivity for molecular detection of bacterial and *Candida* infections in blood. *J Clin Microbiol*. 2014;52:3164-74.
 64. Marklein G, Josten M, Klanke U, Müller E, Horré R, Maier T, et al. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for fast and reliable identification of clinical yeast isolates. *J Clin Microbiol*. 2009;47:2912-7.
 65. Raad I, Hanna H, Maki D. Intravascular catheter-related infections: advances in diagnosis, prevention, and management. *Lancet Infect Dis*. 2007;7:645-57.
 66. Harbarth S, Nohre V, Pittet D. Does antibiotic selection impact patient outcome? *Clin Infect Dis*. 2007;44:87-93.
 67. Heenen S, Jacobs F, Vincent JL. Antibiotic strategies in severe nosocomial sepsis: why do we not de-escalate more often? *Crit Care Med*. 2012;40:1404-9.
 68. Davey P, Brown E, Charani E, Fenelon L, Gould IM, Holmes A, et al. Interventions to improve antibiotic prescribing practices for hospital inpatients. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013;4:CD003543.
 69. Clerc O, Prod'hom G, Vogne C, Bizzini A, Calandra T, Greub G. Impact of matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry on the clinical management of patients with Gram-negative bacteremia: a prospective observational study. *Clin Infect Dis*. 2013;56:1101-7.
 70. Béraud G, Garcia M, Rahbari-Oskoui FF. Impact of MALDI-TOF will be highly dependent on the clinician. *Clin Infect Dis*. 2013;57:1501-2.
 71. Huang AM, Newton D, Kunapuli A, Gandhi TN, Washer LL, Isip J, et al. Impact of rapid organism identification via matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight combined with antimicrobial stewardship team intervention in adult patients with bacteremia and candidemia. *Clin Infect Dis*. 2013;57:1237-45.
 72. Mwaigwisya S, Assiri RA, O'Grady J. Emerging commercial molecular tests for the diagnosis of bloodstream infection. *Expert Rev Mol Diagn*. 2015;15:681-92.
 73. Tamma PD, Tan K, Nussenblatt VR, Turnbull AE, Carroll KC, Cosgrove SE. Can matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF) Enhance antimicrobial stewardship efforts in the acute care setting? *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2013;34:990-5.
 74. Perez KK, Olsen RJ, Musick WL, Cernoch PL, Davis JR, Peterson LE, et al. Integrating rapid diagnostics and antimicrobial stewardship improves outcomes in patients with antibiotic-resistant Gram-negative bacteremia. *J Infect*. 2014;69:216-25.
 75. Nagel JL, Huang AM, Kunapuli A, Gandhi TN, Washer LL, Lassiter J, et al. Impact of antimicrobial stewardship intervention on coagulase-negative *Staphylococcus* blood cultures in conjunction with rapid diagnostic testing. *J Clin Microbiol*. 2014;52:2849-54.
 76. Micek ST, Welch EC, Khan J, Pervez M, Doherty JA, Reichley RM, et al. Empiric combination antibiotic therapy is associated with improved outcome against sepsis due to Gram-negative bacteria: a retrospective analysis. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54:1742-8.
 77. Perez KK, Olsen RJ, Musick WL, Cernoch PL, Davis JR, Land GA, et al. Integrating rapid pathogen identification and antimicrobial stewardship significantly decreases hospital costs. *Arch Pathol Lab Med*. 2013;137:1247-54.
 78. Coulter S, Merollini K, Roberts JA, Graves N, Halton K. The need for cost-effectiveness analyses of antimicrobial stewardship programmes: a structured review. *Int J Antimicrob Agents*. 2015;46:140-9.
 79. Dixon P, Davies P, Hollingworth W, Stoddart M, MacGowan A. A systematic review of matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry compared to routine microbiological methods for the time taken to identify microbial organisms from positive blood cultures. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2015;34:863-76.
 80. Muñoz Bellido JL, González Buitrago JM. Espectrometría de masas MALDI-TOF en microbiología clínica. Situación actual y perspectivas futuras. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2015;33:369-71.