


EDITORIAL

Aplicaciones de la espectrometría de masas MALDI-TOF en la microbiología clínica



Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical microbiology

José Alejandro Di Conza

Editor Asociado de Revista Argentina de Microbiología, Buenos Aires, Argentina

Las instituciones de mediana y alta complejidad incluyen en sus laboratorios de microbiología sistemas automatizados para la detección e identificación de patógenos y para los ensayos de sensibilidad antimicrobiana. Es sabido que la espectrometría de masas es cada vez más utilizada para la identificación rápida y precisa de estos patógenos —lo que justifica su adquisición desde el punto de vista sanitario—, y que los gastos de instalación son amortizables en relación con el bajo costo de procesamiento por muestra.

La tecnología MALDI-TOF MS (siglas de matrix assisted laser desorption ionization-time of flight-mass spectrometry) ha significado un avance notorio en el diagnóstico clínico microbiológico, al permitir la identificación de microorganismos mediante el análisis comparativo de sus perfiles de proteínas, principalmente ribosomales, contra los perfiles correspondientes a cepas de referencia, disponibles en bases de datos o bibliotecas de espectros de masas y específicos para cada género y especie.

En Argentina, los equipos comerciales para la identificación microbiana que usan la tecnología MALDI-TOF MS son el sistema MALDI Biotyper® (Bruker Daltonics Inc., Bremen, Alemania) y el sistema VITEK®MS (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Francia). Cada uno de ellos presenta su propia biblioteca de espectros de referencia, que se comercializa

junto con el equipo. Sin embargo, no se trata de bibliotecas cerradas, ya que es posible ampliar las bases de datos disponibles mediante su capacidad de agregar nuevos espectros³. Esta metodología se vuelve ampliamente superadora de los métodos tradicionales de identificación, pero también representa un gran desafío para la infectología clínica, ya que amplía la capacidad diagnóstica al abarcar especies que no se podían identificar de manera rutinaria, lo que tiene implicancias clínicas y epidemiológicas antes no consideradas¹.

Aplicando MALDI-TOF MS directamente a un cultivo bacteriano se producen espectros de proteínas característicos y reproducibles (en el orden de los 2 a 20 kDa) y la comparación de esta composición proteica permite la identificación bacteriana de manera rutinaria, con alto grado de precisión. Se ha observado un excelente desempeño de estos equipos en la identificación de la mayoría de las bacterias gram negativas y gram positivas de frecuente recuperación en el laboratorio de microbiología clínica⁴. En ciertos grupos microbianos (por ejemplo, gram positivos, bacterias anaerobias o micobacterias), se requiere de un tratamiento previo adicional, que no altera sustancialmente los tiempos de identificación.

La versatilidad de esta tecnología también ha permitido la identificación certera de otros microorganismos, como muchas de las levaduras de relevancia clínica (incluso con diferenciación de especies de *Candida* estrechamente

Correo electrónico: jdiconza@gmail.com

<https://doi.org/10.1016/j.ram.2022.08.001>

0325-7541/© 2022 Asociación Argentina de Microbiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

relacionadas)³. En contraposición, la identificación de mohos mediante esta tecnología en el diagnóstico clínico de rutina ha tenido más complicaciones debido a la dificultad en la lisis de estos microorganismos y los problemas en la estandarización del método. Otro de los desarrollos documentados con esta tecnología y con un alto potencial respecto del impacto clínico es la identificación directa de microorganismos desde las muestras biológicas. Se ha reportado una variedad de protocolos para la identificación de microorganismos presentes en hemocultivos positivos, con concordancias elevadas respecto de los métodos convencionales y con una disminución del tiempo promedio hasta la entrega de resultados de 24 h como mínimo. Asimismo, algunos estudios han evaluado esta metodología en muestras de orina, con resultados concordantes a nivel de especie cuando los recuentos de colonias son $> 10^5$ UFC/ml. Menos exitosos fueron los resultados obtenidos directamente sobre líquido cefalorraquídeo.

Además de la identificación microbiana, la tecnología MALDI-TOF MS ha prosperado en la detección de mecanismos de resistencia a los antimicrobianos, y está tomando impulso en la tipificación de ciertas especies bacterianas con el objetivo de permitir la identificación de virotipos relevantes, de clones exitosos o para abordar investigaciones epidemiológicas.

Los principales desarrollos en la detección de mecanismos de resistencia se efectuaron sobre β -lactamasas. Estas enzimas son detectadas de manera indirecta, evaluando la actividad hidrolítica del anillo β -lactámico (sustrato) y analizando la aparición/desaparición de los picos correspondientes a las formas no hidrolizadas e hidrolizadas del antibiótico (espectros en el orden de 100 a 1000 Da). Esto permitió la publicación de numerosos protocolos desarrollados, principalmente, para la detección de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) y carbapenemasas de relevancia clínica en enterobacterias y bacilos gram negativos no fermentadores. Sin embargo, considerando la diversidad de los protocolos publicados, en los que la duración promedio de la incubación es de 3 h, con diferentes β -lactámicos empleados como sustratos, es difícil definir un método universal para la detección de estos mecanismos de resistencia⁴.

En nuestro país, se desarrolló un método directo, sencillo y rápido mediante MALDI-TOF MS para la identificación de β -lactamasas plasmídicas de relevancia clínica (AmpC, BLEE, carbapenemasas) y otros determinantes de resistencia presentes en las bacterias de origen clínico. El ensayo detecta directamente las proteínas efectoras del mecanismo de resistencia, emplea un método de extracción que se aplica sobre la muestra bacteriana y se realiza en aproximadamente 30 min, modificando el intervalo de masas de detección de acuerdo con el peso molecular teórico de las proteínas a detectar (17-50 kDa)². Este protocolo podría efectuarse en paralelo con la identificación bacteriana. De este modo se lograría una instauración precoz del tratamiento antimicrobiano adecuado (con una diferencia de 48 h o más), con el consecuente beneficio para el paciente y los sistemas de salud.

Además, la técnica de MALDI-TOF MS ha sido aplicada para la detección de mecanismos de resistencia a aminoglicósidos y colistina en bacilos gram negativos, y para la discriminación precisa de *Enterococcus faecium* resistentes

a glicopéptidos; en este último caso, sobre la base de señales específicas en los espectros de masas debido a la presencia del gen *vanA*⁴.

Más aún, el desarrollo de esta herramienta ha permitido identificar la relación entre distintos aislamientos mediante el análisis de conglomerados. Recientemente, se ha logrado la identificación de los principales complejos clonales de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina (SARM) adquiridos en el hospital o la detección de cepas de *Escherichia coli* productoras de BLEE pertenecientes al secuenciotipo ST131, expandiendo la capacidad de la técnica de MALDI-TOF MS para proporcionar una tipificación en simultáneo con la identificación bacteriana, sin gastos adicionales y con un impacto potencial en el control de infecciones.

En síntesis, la espectrometría de masas MALDI-TOF es, sin dudas, una tecnología rápida y precisa con capacidad para identificar diversos tipos de microorganismos desde cultivos, o también para trabajar directamente con muestras biológicas, lo que brinda una gran ventaja sobre las rutinas basadas en el cultivo. Por otro lado, el desarrollo y la implementación de protocolos que permitan tipificar determinadas especies bacterianas de importancia clínica (clones exitosos, serovariedades) o detectar los mecanismos de resistencia a antimicrobianos antes mencionados, u otros por evaluar, representará un salto cualitativo en los procedimientos microbiológicos tradicionales. En este contexto, es posible pensar que, en pocos años, esta tecnología microbiológica disruptiva entregará al médico un resultado rápido y certero, siempre que su implementación esté apoyada en algoritmos diagnósticos que integren diferentes tipos de pruebas (por ejemplo, tinciones, observaciones microscópicas y ensayos de sensibilidad antimicrobiana).

No obstante, hasta que estas nuevas determinaciones completen sus etapas de validación y verificación, la técnica de MALDI-TOF MS no reemplaza el análisis microbiológico tradicional, sino que permitirá sospechar o descartar algunas de las características antes mencionadas.

Es esperable que en los próximos años se produzca un rápido crecimiento de las bases de datos, las que sumarán huellas peptídicas de microorganismos procariontes de aislamiento menos frecuente. También se vislumbran avances en otros aspectos de la microbiología, como la detección de toxinas bacterianas o la evaluación de antígenos capsulares específicos, que permitirían diagnosticar infecciones y evaluar su pronóstico.

Por el momento, la detección de virus y parásitos mediante MALDI-TOF MS ha sido menos fructífera, pero existen resultados alentadores, lo que augura el surgimiento de nuevas líneas de trabajo con esta tecnología en ambos campos de la microbiología.

Desde 2015 nuestro país cuenta con la Red Nacional de Identificación Microbiológica por Espectrometría de Masas (RENAEM), entidad integrada por los laboratorios públicos y privados de todo el país que han implementado esta tecnología como herramienta para la identificación microbiológica⁶. La finalidad de esta red es promover la integración y transferir los avances desarrollados por los grupos de trabajo nacionales, además de unificar metodologías y criterios de identificación. Los profesionales interesados podrán acceder a la página web de la

RENAEM (<http://www.anlis.gov.ar/renaem/>), donde encontrarán publicados los protocolos actualizados, las bases de datos disponibles, los avances y las publicaciones nacionales en este tema.

Teniendo en cuenta sus ventajas, y, a pesar de los costos que implica la inclusión del equipo en determinadas instituciones de salud, la espectrometría de masas MALDI-TOF será, sin dudas, una tecnología de uso frecuente en los laboratorios, con grandes perspectivas de desarrollo para abordar nuevas determinaciones en el ámbito de la microbiología.

Bibliografía

1. Barberis C, Florencia Veiga M, Tolosa D, Vay C, Schuarzberg P. [Empyema necessitatis caused by *Campylobacter rectus*. Rapid identification by MALDI-TOF MS]. *Rev Argent Microbiol*. 2022;13S0325–7541:00017–27.
2. Figueroa-Espinosa R, Costa A, Cejas D, Barrios R, Vay C, Radice M, Gutkind G, Di Conza J. MALDI-TOF MS based procedure to detect KPC-2 directly from positive blood culture bottles and colonies. *J Microbiol Methods*. 2019;159:120–7.
3. Marucco AP, Minervini P, Snitman GV, Sorge A, Guelfand LI, Moral LL. Integrantes de la Red de Micología CABA Comparison of the identification results of *Candida* species obtained by BD Phoenix™ and MALDI-TOF (Bruker Microflex LT Biotyper 3.1). *Rev Argent Microbiol*. 2018;50:337–40.
4. Oviaño M, Rodríguez-Sánchez B. MALDI-TOF mass spectrometry in the 21st century clinical microbiology laboratory *Enferm Infecc Microbiol Clin (Engl Ed)*. 2021;39:192–200.
5. Papalia M, Figueroa-Espinosa R, Steffanowski C, Barberis C, Almuzara M, Barrios R, Vay C, Gutkind G, Di Conza J, Radice M. Expansion and improvement of MALDI-TOF MS databases for accurate identification of *Achromobacter* species. *J Microbiol Methods*. 2020;172:105889.
6. Rocca MF, Almuzara M, Barberis C, Vay C, Viñes P, Prieto M. [Presentation of the National Network for Microbiological Identification by Mass Spectrometry website. Guide for the interpretation of MALDI-TOF MS results]. *Rev Argent Microbiol*. 2020;52:83–4.