

Identificación de hongos por MALDI-TOF MS

CONSTANZA GISELLE TAVERNA

Departamento Micología, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (INEI)-ANLIS «Dr. Carlos G. Malbrán». Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

ctaverna@anlis.gov.ar

La tecnología de *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-flight Mass Spectrometry* (MALDI-TOF MS) ha revolucionado el campo de la microbiología, incluyendo la identificación de hongos. Esta nueva tecnología se basa en la obtención de un espectro proteico del microorganismo en estudio y su comparación con los espectros proteicos de cepas de referencia almacenados en base de datos. Posee varias aplicaciones, como la identificación a partir de cultivos, la identificación a partir de muestras clínicas, la detección de resistencia a los antimicrobianos y tipificación. Siendo la identificación a partir del cultivo la más utilizada y la que ha demostrado tener mayor robustez. La identificación por MALDI-TOF MS es rápida, reproducible, fácil de realizar, se puede utilizar para una gran variedad de microorganismos y es aplicable a laboratorios clínicos. Sin embargo, es importante mantener los protocolos establecidos y poseer bases de datos validadas que demuestren el desempeño de la técnica para la correcta identificación y diferenciación de cada grupo de microorganismos. Varios estudios han demostrado que las dos plataformas comerciales de MALDI-TOF MS actualmente más utilizadas (MALDI Biotyper y VITEK MS) permiten la correcta identificación de por los menos un 90 % de los aislados clínicos de levaduras. En cambio, las bases de datos son más limitadas en el número de especies de hongos filamentosos y el número de

identificaciones correctas suele ser menor dependiendo del grupo taxonómico. Por otro lado, es posible generar bases de datos *in house* que completen las bases de datos de los fabricantes con cepas de referencias regionales y cepas de especies poco o nada representadas en estas bases. Además, esas bases se pueden compartir con otros equipos y hasta se pueden realizar identificaciones utilizando aplicaciones en la web. Diversos estudios demuestran que la ampliación de las bases de datos, tanto de levaduras como de hongos filamentosos, permite mejorar los porcentajes de identificaciones correctas. En nuestro laboratorio hemos desarrollado una base de datos de levaduras con 222 espectros de cepas, pertenecientes a 77 especies, validado con 606 cepas regionales y 134 cepas de referencia internacional. Nuestros resultados muestran que la inclusión de espectros mejora significativamente el porcentaje de aislados correctamente identificados; la técnica permite la diferenciación de especies relacionadas genéticamente; las identificaciones incorrectas se debieron a la no diferenciación entre algunas especies relacionadas genéticamente que son difíciles de diferenciar aún por técnicas basadas en ADN o que tienen una clasificación incierta; y que la gran mayoría de las cepas no identificadas pertenecían a especies no representadas en las bases de datos. Otro uso de MALDI-TOF MS es la identificación de microorganismos a partir de muestras que, si bien no está muy extendido y faltan protocolos estandarizados, también parece ser promisorio. En este sentido, algunos estudios que se han realizado para la identificación de levaduras a partir de muestras de sangre han logrado identificar un 60 % de las muestras positivas y tienen la ventaja de obtener los resultados más rápidamente que a partir del cultivo. Finalmente, debemos también considerar que la técnica MALDI-TOF MS permite la identificación rápida de un gran número de hongos a partir de cultivo, pero no debe ser tomada como un dato aislado sino que debe realizarse acompañada de la

visualización morfológica. Además, si bien ha demostrado tener una alta capacidad para diferenciar especies cercanas, no reemplaza completamente la identificación *gold standar* basada en la secuenciación del ADN.

Palabras clave: MALDI-TOF MS; identificación, base de datos.