

Diseño, estandarización e implementación de una nueva técnica en Guatemala, para el diagnóstico rápido de hemocultivos positivos, utilizando la tecnología Maldi-tof

Design, standardization and implementation of a new technique in Guatemala, for the rapid diagnosis of positive blood cultures, using Maldi-tof technology

Juan C. Barrera-Toledo^{1,2}, Sergio Melgar², Edith Oregón³

¹Áreas de Bacteriología y Tuberculosis y Hongos, Laboratorio Clínico, Hospital General San Juan de Dios,

²Escuela de Estudios de Postgrado, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de San Carlos de Guatemala,

³Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara, México

*Autor al que se dirige la correspondencia: juanc_7barrera@hotmail.com

Recibido: 21 de abril 2020 / Revisión: 08 de julio 2020 / Aceptado: 13 de noviembre 2020

Resumen

Las enfermedades infecciosas son un problema de salud que a pesar de los avances médicos siguen cobrando vidas en todo el mundo; como las septicemias. La presente investigación tuvo por objetivo diseñar, estandarizar e implementar un protocolo inexistente en Guatemala, para el diagnóstico rutinario de hemocultivos positivos dentro de las instalaciones del Laboratorio Clínico del Hospital General San Juan de Dios, lugar en donde se encuentra el único espectrómetro de masas de tipo Maldi-tof (*Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of flight-mass spectrometry*). Se utilizaron 240 muestras de pacientes de los diferentes servicios. El diagnóstico se realizó comparando las identificaciones obtenidas a partir de cultivos microbiológicos puros con muestras directas de botellas con caldo BHI (*Brain Heart Infusion*). Los resultados de las dos metodologías fueron evaluados con el diseño estadístico “apareado o emparejado en grupo”. La comparación no evidenció discordancia en las identificaciones; pero sí en los tiempos de respuesta. La reducción de tiempo fue de 42.9 h para bacterias Gram positivo, 45.0 h para bacterias Gram negativo y 126.2 h para levaduras, todos a favor de identificaciones a partir de muestras directas. Con esta investigación se pretende ofrecer una nueva alternativa que permitirá brindar un diagnóstico rápido, confiable y certero a la población guatemalteca. También permitirá reducir la morbimortalidad de los pacientes con septicemias, promover el ahorro de insumos hospitalarios, disminuir el tiempo de estancia hospitalaria, ahorrar el consumo de antibióticos innecesarios y contribuir indirectamente a combatir la resistencia antimicrobiana; un problema actual de gran importancia a nivel mundial.

Palabras claves: Microbiología, septicemia, espectrometría de masas

Abstract

Infectious diseases are a health problem that despite medical advances in terms of diagnosis continue to take lives worldwide, such is the case of sepsis. The purpose of this research was to design, standardize and implement a non-existent protocol in Guatemala, for the routine diagnosis of positive blood cultures, within the facilities of the clinical laboratory of the San Juan de Dios General Hospital; where the only Maldi-tof (*Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of flight-mass spectrometry*) type mass spectrometer is located. For this, 240 samples of positive blood cultures were used, coming from patients of the different services. The microbiological diagnosis was made by comparing the identification data obtained from pure microbiological cultures and direct samples of BHI broth (*Brain Heart Infusion*) bottles. The results of the two methodologies were evaluated based on “paired or matched in groups” statistical design. The Maldi-tof technique did not show disagreement regarding identification between the two types of samples; but it did in the response time. The time reduction was 42.9 h for Gram positive bacteria, 45.0 h for Gram negative and 126.2 h for yeasts, supporting identification from direct samples. This research aims to provide a new diagnostic alternative that will allow access to fast, reliable, and accurate results for the Guatemalan population. It will also help to reduce morbidity and mortality rates of patients with sepsis, to promote hospital supplies savings, decrease the patient length of stay, save unnecessary antibiotics and indirectly contribute to combating antimicrobial resistance; a critical problem faced by the world today.

Keywords: Microbiology, septicemia, mass spectrometry



Introducción

Se definen como septicemia a la enfermedad infecciosa generalizada debida a la existencia de un foco infeccioso en el interior del cuerpo, encontrándose microorganismos en el torrente sanguíneo. Como consecuencia, se presenta una gran cantidad de síntomas que, en caso de un incorrecto o tardío abordaje antibiótico, provocan la muerte del paciente (Cattani et al., 2015).

El diagnóstico microbiológico de septicemias se realiza mediante el análisis de hemocultivos (Gherardi et al., 2012), los cuales actualmente requieren un promedio de cinco a siete días para brindar un diagnóstico certero. Dicho lapso es tardío en la mayoría de las ocasiones, y retrasa la toma de decisiones poniendo en riesgo la vida de los pacientes. Por esta razón, es imperativo mejorar los protocolos de diagnóstico utilizados actualmente (Ferreira et al., 2010).

La identificación de microorganismos en el Laboratorio Clínico, se ha llevado a cabo tradicionalmente mediante pruebas fenotípicas; como la caracterización macroscópica de las colonias, tinciones y pruebas bioquímicas (Ferreira et al., 2011). La automatización de algunas de estas pruebas ha constituido un avance importante, pero continúa siendo insuficiente, debido al tiempo de respuesta (Angeletti, 2017).

El desarrollo de espectrometría de masas de tipo Maldi-tof permite la identificación de microorganismos a partir de cultivos puros mediante el análisis de proteínas ribosómicas, las cuales generan un espectro de masas específico para cada microorganismo en un corto tiempo (uno a dos minutos aproximadamente) (Lewis et al., 2006).

El sistema Maldi-tof, separa y detecta iones en fase gaseosa. Los elementos principales que forman su sistema son: una fuente de ionización, un analizador de masas y un detector (García et al., 2012).

El resultado de aplicar una fuente de ionización sobre una molécula es la formación de iones generados por exceso o pérdida de electrones. La muestra es embebida en una matriz orgánica, la cual cristaliza en contacto con el aire (Aebersold & Mann, 2003). Esta mezcla se deposita en una tarjeta de material conductor y es irradiada por un láser. La energía del láser causa una desestructuración de la matriz cristalizada, generando una nube de partículas. Los iones de dicha nube se extraen al ser sometidos a un campo eléctrico, a través del cual son acelerados debido a su carga. Los iones obtenidos son dirigidos hacia el analizador de

masas y posteriormente al detector (Cherkaoui et al., 2010). El papel de la matriz es fundamental para los procesos electroquímicos que se producen. Generalmente se utilizan sustancias orgánicas que absorben la energía del láser como, por ejemplo, ácidos α -ciano-4-hidroxi-trans cinámico (TFA), 2,5-dihidrobencico, sinapínico y fórmico (Claydon et al., 1996).

Un estudio elaborado por Hoyos-Mallecot y colaboradores (2013), evidenciaron que utilizando las muestras de hemocultivos positivos de forma directa se redujo considerablemente el tiempo de respuesta diagnóstica. Los resultados obtenidos evidencian que el 77.5% de identificaciones para especies y 93.8% para subespecies fueron realizados de forma exitosa; razón por la cual concluyen que el buen funcionamiento, la rapidez y el bajo costo hacen que esta técnica sea apropiada y fácil de implantar en los Laboratorios de Microbiología Clínica.

En Guatemala, solamente existe un espectrómetro de masas de tipo Maldi-tof y está ubicado en el Laboratorio Clínico del Hospital General San Juan de Dios (HGSJDD). Por lo que siendo éste un hospital de referencia nacional, es necesario utilizar los recursos de forma óptima y brindar diagnósticos rápidos, confiables y certeros a la población guatemalteca.

La presente investigación tuvo por objetivo diseñar, estandarizar e implementar un protocolo inexistente en Guatemala, utilizando muestras directas de hemocultivos positivos provenientes de los pacientes que se encontraban en los diferentes servicios del HGSJDD, a quienes les fue solicitado, por el personal médico, un análisis de hemocultivo.

Materiales y Metodos

Recolección y procesamiento de muestras

Se utilizaron 240 muestras de hemocultivos positivos provenientes de pacientes de los diferentes servicios del HGSJDD. Las muestras fueron llevadas al Laboratorio Clínico por el personal médico con solicitud de análisis microbiológico de hemocultivos. Fueron seleccionadas aquellas muestras que cumplieran con los criterios de inclusión establecidos (identificación, solicitud de Laboratorio, medio y volumen de muestra adecuado).

Las botellas para la recolección de muestras contienen caldo BHI enriquecido, que promueve el crecimiento de cualquier microorganismo presente en la muestra y perlas de resina que evitan la formación de

acúmulos bacterianos (Fernández Olmos et al., 2013). Las presentaciones pediátricas requerían 5 mL de sangre y las de adultos 10 mL (la relación medio de cultivo y muestra, son de gran importancia para obtener un correcto diagnóstico por lo que fueron respetadas). Las muestras fueron analizadas por dos metodologías: Identificación microbiológica utilizando, Maldi-tof a partir de cultivos puros (Drevinek et al., 2012; Dupont et al., 2010; Galán et al., 2015) y Maldi-tof utilizando muestras directas (nueva metodología diseñada). Ambas metodologías se compararon y se correlacionaron los resultados de identificación y tiempo de respuesta en cada método.

Identificación microbiológica por método Maldi-tof a partir de cultivos puros

Cada lámina cuenta con tres segmentos de 16 posiciones cada uno; haciendo un total de 48 posiciones para análisis de muestras y tres posiciones adicionales para la respectiva calibración, para lo cual se utilizaron cepas de *Escherichia coli* ATCC 1884. Las colonias fueron colocadas utilizando asas calibradas especiales y fijadas con 1 μ L de matriz orgánica (constituida por acetoneitrilo, TFA y ácido fórmico al 15%). Las láminas fueron secadas al aire e introducidas en el equipo Maldi-tof el cual lee inmediatamente las muestras proporcionando un marco de lectura que fue interpretado de forma automática en un periodo de uno a dos minutos por muestra aproximadamente (Clark et al., 2013).

Identificación microbiológica por método Maldi-tof a partir de muestras directas

Para el procesamiento de las muestras, se realizó una extracción proteica, utilizando el procedimiento establecido por Hoyos-Mallecot y colaboradores (2013). El procedimiento aquí descrito fue modificado de la siguiente manera: Materiales, se utilizaron tubos cónicos, para facilitar la decantación de la muestra, en vez de los tubos de ensayo ordinarios. Procedimiento, en el paso 2, se agregaron 500 μ L de dodecil sulfato de sodio (SDS) al 10% en lugar de 200 μ L de SDS al 5%, debido a que no se obtenía una cantidad suficiente de extracto proteico. El paso 3, se realizó tres veces ya que fue necesario lavar y centrifugar dos veces más por el cambio de volúmenes y concentración del SDS. En el paso 7, se re suspendió el extracto proteico en 500 μ L de agua miliQ en lugar de 1 mL, ya que la cantidad

de agua era suficiente y no afectaba la integridad de la muestra. Se colocaron 2 μ L de extracto proteico en cada una de las posiciones de la lámina y se fijaron con 1 μ L de matriz orgánica. Posteriormente, la muestra fue secada al aire y leída con el espectrómetro de masas (Maldi-tof).

Análisis estadístico

Considerando los antecedentes de los tiempos diagnósticos y que se necesitaba por lo menos 24 h de diferencia entre metodologías, el cálculo de muestra se estableció para un diseño apareado o emparejado de un grupo, evaluándose los tiempos por medio de una prueba de hipótesis unilateral (Nave, 2018). El cálculo se realizó utilizando el programa Granmo 7.12, cuya salida indica literalmente:

“Aceptando un riesgo alfa de 0.05 y un riesgo beta de 0.05 en un contraste unilateral, se precisan por lo menos 58 sujetos para detectar una diferencia igual o superior a las 24 unidades. Se asume una desviación estándar de 55.44”.

Para la correlación metodológica se realizó una prueba de hipótesis unilateral (t de Student) para la media aritmética de las diferencias de tiempo entre los métodos, esto permitió evaluar, si la diferencia obtenida era estadísticamente significativa (> 24 h). Si, la identificación microbiológica hubiese tenido alguna variación entre los métodos, se debía realizar un análisis de concordancia por medio del índice Kappa; lo cual no fue necesario, debido a que no se encontraron diferencias.

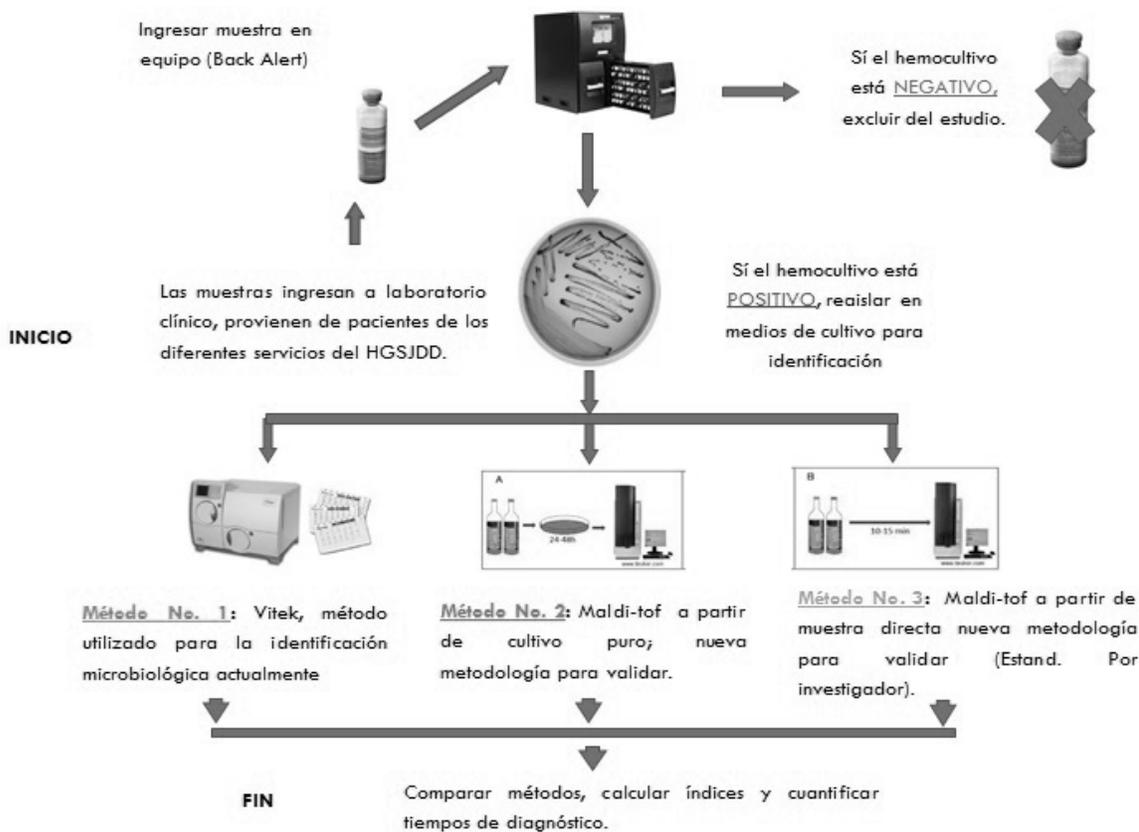
Resultados

Frecuencias y porcentaje de agentes etiológicos de septicemias

Las muestras fueron identificadas con la tecnología Maldi-tof. Se utilizaron muestras de cultivos microbiológicos puros y muestras directas a partir de botellas con caldo BHI. Los resultados en cuanto a identificación se refieren, no evidenciaron diferencia, por el contrario, si se encontraron diferencias en los tiempos de respuesta diagnóstica (Figura 1).

El total de muestras procesadas fueron 240, de las cuales 156 eran de bacterias Gram positivo siendo *Staphylococcus epidermidis* (47.1%) el mayormente aislado en hemocultivos de vía central, ya que en el caso de los hemocultivos periféricos no es considerado

Figura 1
Flujograma de trabajo para diagnóstico de hemocultivos utilizando Maldi-tof



como agente etiológico de septicemias. De igual forma *Streptococcus pneumoniae*, *Corynebacterium striatum* y *Aerococcus viridans* fueron los encontrados en menor porcentaje (0.6%)

En cuanto a las bacterias Gram negativo se observó que *Acinetobacter baumannii* fue el identificado en mayor porcentaje (21.3%), así como *Bacillus cereus* y *Pseudomonas stutzeri* en el menor (1.3%).

Finalmente, de los microorganismos levaduriformes se observaron únicamente cinco casos, de los cuales el 80% eran causados por *Candida tropicalis* y el 20% por *Candida albicans*.

Reducción de tiempo en la identificación microbiológica de hemocultivos positivos

En la identificación de microorganismos Gram positivo se observó una reducción de tiempo promedio de 42.9 h al comparar el método Maldi-tof cultivo

(MT-C) con respecto al método Maldi-tof muestra directa (MT-MD).

En cuanto a la identificación de microorganismos Gram negativo se pudo observar una reducción de tiempo promedio de 45.0 h al comparar el MT-C con respecto al método MT-MD.

La identificación de levaduras evidenció una reducción de tiempo promedio de 126.2 h al comparar el método MT-C con respecto al método MT-MD.

Discusión

La presente investigación tuvo por objetivo diseñar, estandarizar e implementar un protocolo, para el diagnóstico rutinario de hemocultivos positivos, dentro de las instalaciones del Laboratorio Clínico del HGSJDD; lugar en donde se encuentra el único espectrómetro de masas de tipo Maldi-tof (*Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of flight-mass spectrometry*).

try) en Guatemala. Dicha metodología permitió obtener resultados confiables, rápidos y certeros en cuanto a identificaciones microbiológicas se refiere, así también permitió reducir el tiempo de respuesta diagnóstica, lo cual promoverá brindar un pronto y correcto abordaje antibiótico a los pacientes con septicemia (Emonet et al., 2010).

Fueron analizadas 240 muestras, de las cuales 156 fueron identificadas con bacterias Gram positivo, 79 como bacterias Gram negativo y cinco como levaduras.

El hemocultivo o cultivo de sangre, es una prueba de Laboratorio que se realiza para identificar la presencia de microorganismos en el torrente sanguíneo principalmente bacterias y hongos (Holland et al., 1996). Se realiza ante la sospecha de un proceso infeccioso en curso o la necesidad de identificar el microorganismo que causa dicha infección, con el objetivo de instaurar el tratamiento farmacológico más efectivo (Kohlmann et al., 2015).

Tomando en cuenta las ventajas y respetando el principio de la tecnología Maldi-tof, se analizaron cultivos microbiológicos puros y la variante con muestras directas; este último con el objetivo de acortar aún más el tiempo necesario para el diagnóstico de septicemias. Las frecuencias evidencian que el 65% de las septicemias fueron causadas por bacterias Gram positivo (Tabla 1); siendo el género *S. epidermidis* la más frecuente y *A. viridans*, *C. striatum* y *S. pneumoniae* en menor frecuencia. *Corynebacterium striatum* es considerado como agente contaminante en mucha literatura (Zabbe et al., 2015).

Las septicemias causadas por bacterias Gram positivo cobran gran importancia, debido a que son los microorganismos identificados con mayor frecuencia, siendo los principales representantes: *Staphylococcus aureus* MRSA y *S. pyogenes* (Moura et al., 2008). Estas bacterias poseen en su estructura peptidoglicano (PNG) y ácido teicoico (LTA), dos moléculas que son reconocidas como patrones moleculares asociados a

Tabla 1

Frecuencia y porcentajes de bacterias Gram positivo identificadas como agente causal de septicemias en pacientes de los diferentes servicios del HGSJDD (n = 156)

ID. Microbiológica	F	% GP	% FT
<i>Aerococcus viridans</i>	1	0.6	0.4
<i>Corynebacterium striatum</i>	1	0.6	0.4
<i>Staphylococcus aureus</i>	26	16.8	10.8
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	73	47.1	30.4
<i>Staphylococcus hominis</i>	32	20.6	13.3
<i>Staphylococcus capitis</i>	6	3.9	2.5
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	7	4.5	2.9
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	3	1.9	1.3
<i>Streptococcus mitis</i>	2	1.3	0.8
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1	0.6	0.4
<i>Enterococcus faecalis</i>	4	2.6	1.7
Total	156	100.0	65.0

Nota. F: Frecuencia / % GP: Porcentaje de Gram positivo / % GN: Porcentaje de Gram negativo / % LEV: Porcentaje de levaduras / % FT: Porcentaje de frecuencia total

patógenos (PAMPs) (Sierra et al., 2019), que activan directa y ampliamente el sistema inmune adaptativo promoviendo la liberación de altas cantidades de TNF α , la IL-1 β , la IL-6, el INF γ , IL-8, IL-18, IL-2, IL-12, IL-10, responsables de daños multiorgánicos y principalmente afecciones cardiacas (Luethy & Johnson, 2018).

La frecuencia de septicemias causadas por bacterias Gram negativo se evidencia en la Tabla 2. En estos casos se desencadena una respuesta anómala por parte del huésped a causa de la presencia de lipopolisacáridos (LPS) (Sierra et al., 2019), el principal factor de virulencia reconocido por el complejo proteico NF κ B, que promueven la producción y liberación de citocinas proinflamatorias responsables en su mayoría del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) (Zárate et al., 2014).

El 2.1% de los casos de septicemias fueron provocadas por levaduras del género *Candida* sp.; siendo *C. tropicalis* la causante del 80% de los mismos. Según datos del Centro de Control de Enfermedades Infecciosas (CCEI), estos patógenos han llegado a ocupar el cuarto lugar dentro de las infecciones nosocomiales del torrente sanguíneo, probablemente por la presión de selección a algunos agentes antifúngicos (Contreras et al., 2020). Algunas de estas levaduras presentan resis-

tencia intrínseca (insensibilidad), o desarrollan resistencia secundaria (luego de haber estado en contacto con él); por esta razón se hace necesaria su adecuada identificación a nivel de especie (Singhal et al., 2015).

Kumate y colaboradores (2016), hacen hincapié en la importancia de la correcta y rápida identificación microbiológica, debido a que la terapia antibiótica recomendada en el caso de las septicemias es la línea más alta disponible. Esto quiere decir que, en el caso de las bacterias Gram negativo, se deben administrar carbapenémicos o piperacilina/tazobactam y en el caso de las bacterias Gram positivo vancomicina o Linezolid; para posteriormente realizar un desescalamiento antibiótico y redirección de la terapia con base a los antibiogramas brindados. Esta conducta es recomendada con el objetivo de evitar fallo terapéutico, progresión de la infección y daño multiorgánico.

Del mismo modo, con el objetivo de reducir aún más el tiempo de respuesta diagnóstico se promovió el diseño, desarrollo, ejecución e implementación de una nueva metodología que permitió realizar la identificación microbiológica de hemocultivos positivos, a partir de muestras directas.

Las Tablas 3, 4 y 5 muestran las diferencias en el tiempo de respuesta diagnóstica para cada grupo de microorganismos. Los datos allí descritos, son

Tabla 2
Frecuencia y porcentajes de bacterias Gram negativo identificadas como agente causal de septicemias en pacientes de los diferentes servicios del HGSJDD (n = 79)

ID. Microbiológica	F	% GN	% FT
<i>Acinetobacter baumannii</i>	17	21.3	7.1
<i>Bacillus cereus</i>	6	7.5	2.5
<i>Enterobacter cloacae</i>	10	12.5	4.2
<i>Escherichia coli</i>	14	17.5	5.8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	14	17.5	5.8
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	1	1.3	0.4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15	18.8	6.3
<i>Salmonella group</i>	2	2.5	0.8
Total	79	100.0	32.9

Nota. F: Frecuencia / % GP: Porcentaje de Gram positivo / % GN: Porcentaje de Gram negativo / % LEV: Porcentaje de levaduras / % FT: Porcentaje de frecuencia total.

Tabla 3

Reducción del tiempo en el diagnóstico microbiológico de hemocultivos positivos de bacterias Gram positivo (n = 156)

ID. Microbiológica	t (MT-C vs MT-MD)
<i>Aerococcus viridans</i>	54.0
<i>Corynebacterium striatum</i>	22.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	48.7
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	47.3
<i>Staphylococcus hominis</i>	47.8
<i>Staphylococcus capitis</i>	48.7
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	48.1
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	48.5
<i>Streptococcus mitis</i>	35.9
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	22.0
<i>Enterococcus faecalis</i>	49.2
Promedio de tiempo	42.9

Nota. t: tiempo en h / MT-C: Maldi-tof cultivo / MT-MD: Maldi-tof muestra directa

Tabla 4

Reducción del tiempo en el diagnóstico microbiológico de hemocultivos positivos de bacterias Gram negativo (n = 79)

ID. Microbiológica	t (MT-C vs MT-MD)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	48.2
<i>Bacillus cereus</i>	50.5
<i>Enterobacter cloacae</i>	47.5
<i>Escherichia coli</i>	45.7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	47.5
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	33.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	46.9
<i>Salmonella group</i>	40.9
Promedio de tiempo	45.0

Nota. t: tiempo en h / MT-C: Maldi-tof cultivo / MT-MD: Maldi-tof muestra directa

Tabla 5

Reducción del tiempo en el diagnóstico microbiológico de hemocultivos positivos de levaduras ($n = 5$)

ID. Microbiológica	t (MT-C vs MT-MD)
<i>Candida tropicalis</i>	131.3
<i>Candida albicans</i>	121.2
Promedio de tiempo	126.2

Nota. t: tiempo en h / MT-C: Maldi-tof cultivo / MT-MD: Maldi-tof muestra directa.

semejantes a los resultados reportados por Angeletti y colaboradores (2015), quienes realizaron un estudio similar comparando tiempos de respuesta, antes y después de la introducción de la tecnología Maldi-tof. Los datos obtenidos fueron una reducción de 71.73 h en la identificación para bacterias Gram positivo y 64.03 en la identificación de bacterias Gram negativo; no se comparó el tiempo de respuesta en levaduras, pero sí se calculó para microorganismos anaerobios, en los cuales se observó una reducción de 47.62 h.

En cuanto a las ventajas de utilizar la tecnología Maldi-tof pueden mencionarse: menor tiempo de respuesta diagnóstica, abordaje antibiótico certero en un menor tiempo, evitar daño multiorgánico en los pacientes por uso excesivo e inadecuado de antibióticos innecesarios, ahorro de insumos hospitalarios, menor tiempo de estancia hospitalaria, disminución de costos en terapia antibiótica, combatir indirectamente la resistencia antimicrobiana (De la Pedrosa et al., 2016).

Las principales limitaciones del estudio fueron: la poca información con respecto al tema específicamente en el campo de la microbiología médica y en cuanto a la nueva metodología diseñada, la misma no es útil para septicemias mixtas las cuales se presentan en aproximadamente el 3.5% de los casos (Kumate et al., 2016); esto debido a que es necesario contar con las bacterias de forma individual para ser identificadas (Oviaño García et al., 2019).

Con la presente investigación se pretende brindar a la población guatemalteca una alternativa eficiente que promueva la emisión de resultados rápidos, confiables y certeros para el diagnóstico de septicemias, que generalmente ocupan siete días para su diagnóstico.

Agradecimientos

Al Comité de Investigación del Hospital General San Juan de Dios por permitirnos realizar el presente estudio dentro de sus instalaciones.

References

- Aebersold, R., & Mann, M. (2003). Mass spectrometry-based proteomics. *Nature*, 422(6928), 198-207. <https://doi.org/10.1038/nature01511>
- Angeletti, S., Dicuonzo, G., D'Agostino, A., Avola, A., Crea, F., Palazzo, C., Dedej, E., & Florio, L. (2015). Turnaround time of positive blood cultures after the introduction of matrix-assisted laser desorption-ionization time-of-flight mass spectrometry. *New Microbiological*, 38(3), 379-386.
- Angeletti, S. (2017). Matrix assisted laser desorption time of flight mass spectrometry (Maldi-tof MS) in clinical microbiology. *Journal of Microbiological Methods*, 138, 20-29. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2016.09.003>
- Cattani, M. E., Posse, T., Hermes, R. L., & Kaufman, S. C. (2015). Identificación rápida de microorganismos de frascos de hemocultivos por espectrometría de masas. Comparación de dos procedimientos diagnósticos. *Revista Argentina de Microbiología*, 47(3), 190-195. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2015.06.001>

- Cherkaoui, A., Hibbs, J., Emonet, S., Tangomo, M., Girard, M., Francois, P., & Schrenzel, J. (2010). Comparison of two matrix assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry methods with conventional phenotypic identification for routine identification of bacteria to the species level. *Journal of Clinical Microbiology*, *48*, 1169-1175. <https://doi.org/10.1128/jcm.01881-09>
- Clark, A. E., Kaleta, E. J., Arora, A., & Wolk, D. M. (2013). Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry: A fundamental shift in the routine practice of clinical microbiology. *Clinical Microbiology Reviews*, *26*(3), 547-603. <https://doi.org/10.1128/cmr.00072-12>
- Claydon, M. A., Davey, S. N., Edwards-Jones, V., & Gordon, D. B. (1996). The rapid identification of intact microorganisms using mass spectrometry. *Nature Biotechnology*, *14*(11), 1584-1586. <https://doi.org/10.1038/nbt1196-1584>
- Contreras, S., Rodríguez, D., Vera, F., Balcalls, M., Celis, L., Legarraga, P., Roman, J., & García, P. (2020). Identificación de especies de micobacterias mediante espectrometría de masas Maldi-tof. *Revista Chilena de Infectología*, *37*(3), 252-256. <http://doi.org/10.4067/s0716-10182020000300252>
- De la Pedrosa, E. G. G., Gimeno, C., Soriano, A., & Cantón, R. (2016). Estudios de coste-efectividad con Maldi-tof e impacto clínico. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, *34*, 47-52. [https://doi.org/10.1016/s0213-005x\(16\)30191-4](https://doi.org/10.1016/s0213-005x(16)30191-4)
- Drevinek, M., Dresler, J., Klimentova, J., Pisa, L., & Hubalek, M. (2012). Evaluation of sample preparation methods for Maldi-tof MS identification of highly dangerous bacteria. *Letters in Applied Microbiology*, *55*(1), 40-46. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765x.2012.03255.x>
- Dupont, C., Sivadon-Tardy, V., Bille, E., Dauphin, B., Beretti, J. L., Alvarez, A. S., Degand, N., Ferroni, A., Rottman, M., Herrmann, J. L., Nassif, X., Ronco, E., & Carbonnelle, E. (2010). Identification of clinical coagulase-negative staphylococci, isolated in microbiology laboratories, by matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry and two automated systems. *Clinical Microbiology and Infection*, *16*(7), 998-1004. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.03036.x>
- Emonet, S., Shah, H. N., Cherkaoui, A., & Schrenzel, J. (2010). Application and use of various mass spectrometry methods in clinical microbiology. *Clinical Microbiology and Infection*, *16*(11), 1604-1613. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03368.x>
- Fernández Olmos, A., Bou Olmos, G., Cercenado E., Cantón, R., García de La Fuente, C., Saéz Nieto, J. A., Valdezate Ramos, S. (2013). Métodos de identificación bacteriana en el Laboratorio de microbiología. *Procedimientos en Microbiología Clínica. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia37.pdf>
- Ferreira, L., Sánchez-Juanes, F., Gonzalez-Avila, M., Cembrero-Fucinos, D., Herrero-Hernandez, A., Gonzalez-Buitrago, J. M., & Muñoz-Bellido, J. L. (2010). Direct identification of urinary tract pathogens from urine samples by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of flight mass spectrometry. *Journal of Clinical Microbiology*, *48*(6), 2110-2115. <https://doi.org/10.1128/jcm.02215-09>
- Ferreira, L., Sánchez-Juanes, F., Porrás-Guerra, I., García-García, M. I., García-Sánchez, J. E., González-Buitrago, J. M., & Muñoz-Bellido, J. L. (2011). Microorganisms direct identification from blood culture by Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight Mass Spectrometry. *Clinical Microbiology and Infection*, *17*(4), 546-551. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03257.x>
- Galán, F., García-Agudo, L., Guerrero, I., Marín, P., García-Tapia, A., García-Martos, P., & Rodríguez-Iglesias, M. (2015). Evaluación de la espectrometría de masas en la identificación de levaduras de interés clínico. *Clinical Microbiology and Infection*, *33*(6), 372-378. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2014.10.003>

- García, P., Allende, F., Legarraga, P., Huilcaman, M., & Solari, S. (2012). Identificación bacteriana basada en el espectro de masas de proteínas: Una nueva mirada a la microbiología del siglo XXI. *Revista Chilena de Infectología*, 29(3), 263-272. <https://doi.org/10.4067/s0716-10182012000300003>
- Gherardi, G., Angeletti, S., Panitti, M., Pompilio, A., Di Bonaventura, G., Crea, F., Avola, A., Fico, L., Palazzo, C., Sapia, G., Visaggio, D., & Dicuonzo, G. (2012). Comparative evaluation of the Vitek-2 Compact and Phoenix systems for rapid identification and antibiotic susceptibility testing directly from blood cultures of Gram-negative and Gram-positive isolates. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 72(1), 20-31. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2011.09.015>
- Holland, R. D., Wilkes, J. G., Rafii, F., Sutherland, J. B., Persons, C. C., Voorhees, K. J., & Lay, Jr, J. O. (1996). Rapid identification of intact whole bacteria based on spectral patterns using matrix-assisted laser desorption/ionization with time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 10(10), 1227-1232. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0231\(19960731\)10:10<1227::aid-rcm659>3.0.co;2-6](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0231(19960731)10:10<1227::aid-rcm659>3.0.co;2-6)
- Hoyos-Mallecot, Y., Miranda-Casas, C., Cabrera-Alvargonzalez, J. J., Gómez-Camarasa, C., Pérez-Ramírez, M. D., & Navarro-Marí, J. M. (2013). Identificación bacteriana directamente del hemocultivo mediante una técnica rápida de espectrometría de masas. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 31(3), 152-155. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2012.09.003>
- Kohlmann, R., Hoffmann, A., Geis, G., & Gatermann, S. (2015). Maldi-tof mass spectrometry following short incubation on a solid medium is a valuable tool for rapid pathogen identification from positive blood cultures. *International Journal of Medical Microbiology*, 305(4), 469-479. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2015.04.004>
- Kumate, J., Gutiérrez, G., Muñoz, O., Santos, I., Solórzano, F., & Miranda, G. (2016). *Infectología clínica*. Méndez Editores
- Lewis, J. K., Wei, J., & Siuzdak, G. (2006). Matrix-assisted laser desorption / ionization mass spectrometry in peptide and protein analysis. *Encyclopedia of analytical chemistry*, (pp. 5880-5894). John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.1002/9780470027318.a1621>
- Luethy, P. M., & Johnson, J. K. (2018). The Use of Matrix-Assisted Laser Desorption/ Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) for the Identification of Pathogens Causing Sepsis. *Journal of Applied Laboratory Medicine*, 3(4), 675-685. <https://doi.org/10.1373/jalm.2018.027318>
- Moura, H., Woolfitt, A. R., Carvalho, M. G., Pavlopoulos, A., Teixeira, L. M., Satten, G. A., & Barr, J. R. (2008). Maldi-tof mass spectrometry as a tool for differentiation of invasive and noninvasive streptococcus pyogenes isolates. *Immunology & Medical Microbiology*, 53(3), 333-342. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695x.2008.00428.x>
- Nave, F. (2018). *Estadística para la investigación*. Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación, Unidad de Publicaciones y Divulgación.
- Oviaño García, M., Rodríguez Sánchez, B., Caballero Pérez, J. de D., Muñoz Bellido, J. L. (2019). Aplicaciones de la espectrometría de masas Maldi-tof en Microbiología Clínica. En E. Cercenado Mansilla & R. Cantón Moreno (Eds.), *Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. Servicio de Microbiología.
- Sierra, E., Maldonado, N., Arroyo, B., Robledo, C., & Robledo, J. (2019). Identificación directa de microorganismos a partir de muestras de orina y hemocultivos utilizando Maldi-tof. *Infectio*, 23(4), 364-370. <http://doi.org/10.22354/in.v23i4.812>
- Singhal, N., Kumar, M., Kanaujia, P. K., & Viridi, J. S. (2015). Maldi-tof mass spectrometry: An emerging technology for microbial identification and diagnosis. *Frontiers in Microbiology*, 6(791). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00791>

Zabbe, J. B., Zanardo, L., Mégraud, F., & Bessède, E. (2015). Maldi-tof mass spectrometry for early identification of bacteria grown in blood culture bottles. *Journal of Microbiological Methods*, *115*, 42-46. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2015.04.009>

Zárate, M. S., Romano, V., Nievas, J., & Smayevsky, J. (2014). Utilidad de la espectrometría de masas Maldi-tof en la identificación microbiana anaeróbica. *Revista Argentina de Microbiología*, *46*(2), 98-102. [https://doi.org/10.1016/S0325-7541\(14\)70055-0](https://doi.org/10.1016/S0325-7541(14)70055-0)