

# UNEMI

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

REPÚBLICA DEL ECUADOR

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

FACULTAD DE POSGRADOS

INFORME DE INVESTIGACIÓN

PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGÍA

**TEMA:**

APLICACIÓN DE LA PROTEÓMICA MEDIANTE LA TECNOLOGÍA MALDI-TOF PARA EL DIAGNÓSTICO OPORTUNO DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS EN PACIENTES CRÍTICOS Y HOSPITALIZADOS EN EL HOSPITAL DEL IESS QUITO SUR.

**AUTOR:**

Diego David Sánchez Herrera

**DIRECTOR:**

MsC. Yessenia Beatriz Sarango Ortega

*Milagro, 2024*

## DERECHOS DE AUTOR

Sr. Dr.

Fabrizio Guevara Viejó

Rector de la Universidad Estatal de Milagro Presente.

Yo, Diego David Sánchez Herrera en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales de este informe de investigación, mediante el presente documento, libre y voluntariamente cedo los derechos de Autor de este proyecto de desarrollo, que fue realizada como requisito previo para la obtención de mi Grado, de Magister en Biotecnología, como aporte a la Salud y Bienestar – Condiciones crónicas no transmisibles de conformidad con el Art. 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, concedo a favor de la Universidad Estatal de Milagro una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos. Conservo a mi favor todos los derechos de autor sobre la obra, establecidos en la normativa citada.

Así mismo, autorizo a la Universidad Estatal de Milagro para que realice la digitalización y publicación de este Informe de Investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

El autor declara que la obra objeto de la presente autorización es original en su forma de expresión y no infringe el derecho de autor de terceros, asumiendo la responsabilidad por cualquier reclamación que pudiera presentarse por esta causa y liberando a la Universidad de toda responsabilidad.

Milagro, 06 de agosto de 2024



Firmado electrónicamente por:  
DIEGO DAVID SANCHEZ  
HERRERA

Diego David Sánchez Herrera

1722383435

## APROBACIÓN DEL TUTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Blga. Yessenia Beatriz Sarango Ortega M.Sc. en mi calidad de tutor del trabajo de titulación, elaborado por Diego David Sánchez Herrera, cuyo tema es APLICACIÓN DE LA PROTEÓMICA MEDIANTE LA TECNOLOGÍA MALDI-TOF MS PARA EL DIAGNÓSTICO OPORTUNO DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS EN PACIENTES CRÍTICOS, HOSPITALIZADOS Y AMBULATORIOS EN EL HOSPITAL DEL IESS QUITO SUR., que aporta a la Salud y Bienestar – Condiciones crónicas no transmitibles, previo a la obtención del Grado Magister en biotecnología, Trabajo de titulación que consiste en una propuesta innovadora que contiene, como mínimo, una investigación exploratoria y diagnóstica, base conceptual, conclusiones y fuentes de consulta, considero que el mismo reúne los requisitos y méritos necesarios para ser sometido a la evaluación por parte del tribunal calificador que se designe, por lo que lo APRUEBO, a fin de que el trabajo sea habilitado para continuar con el proceso de titulación de la alternativa de Informe de Investigación de la Universidad Estatal de Milagro.

Milagro, 06 de agosto de 2024



Firmado electrónicamente por:  
YESSENIA BEATRIZ  
SARANGO ORTEGA

Blga. Yessenia Beatriz Sarango Ortega M.Sc  
1105868150

**VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**  
**FACULTAD DE POSGRADO**  
**CERTIFICACIÓN DE LA DEFENSA**

El TRIBUNAL CALIFICADOR previo a la obtención del título de **MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGÍA**, presentado por **LIC. SANCHEZ HERRERA DIEGO DAVID**, otorga al presente proyecto de investigación denominado "APLICACIÓN DE LA PROTEÓMICA MEDIANTE LA TECNOLOGÍA MALDI-TOF PARA EL DIAGNÓSTICO OPORTUNO DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS EN PACIENTES CRÍTICOS, HOSPITALIZADOS Y AMBULATORIOS EN EL HOSPITAL DEL IESS QUITO SUR.", las siguientes calificaciones:

TRABAJO ESCRITO	51.00
SUSTENTACIÓN	31.52
<b>PROMEDIO</b>	<b>82.52</b>
EQUIVALENTE	Bueno



Elmado a la certificación por:  
**KATHERINE LISSETTE**  
**ROMERO VASQUEZ**

Mgs **ROMERO VASQUEZ KATHERINE LISSETTE**  
**PRESIDENTE/A DEL TRIBUNAL**



Elmado a la certificación por:  
**MANUEL IGNACIO**  
**CANDO DIAZ**

Mg **CANDO DIAZ MANUEL IGNACIO**  
**VOCAL**



Elmado a la certificación por:  
**KAREN ALEXANDRA**  
**RODAS PAZMIÑO**

Mgs **RODAS PAZMIÑO KAREN ALEXANDRA**  
**SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL**

## DEDICATORIA

Dedico este trabajo de titulación a: Mi madre, María del Carmen, cuyo amor, sacrificio y apoyo incondicional me han dado la fuerza y la determinación para alcanzar mis metas. Su ejemplo de perseverancia y dedicación ha sido mi mayor inspiración. A ella, le dedico con todo mi corazón este logro

## AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más profundo agradecimiento a mi tutor, la MSc. Yessenia Beatriz Sarango Ortega, por su invaluable orientación, paciencia y apoyo a lo largo de todo el proceso. Su experiencia y conocimientos han sido fundamentales para la realización de este trabajo.

A mi familia, especialmente a mi madre María del Carmen Herrera, por su amor incondicional y por creer en mí en todo momento. Su apoyo emocional ha sido crucial para la culminación de esta etapa académica.

Finalmente, quiero agradecer a mi querida universidad UNEMI Sin su colaboración, este proyecto no habría sido posible.

A todos ustedes, mi más sincero agradecimiento.

## RESUMEN

La identificación bacteriana mediante métodos tradicionales es lenta y laboriosa, afectando negativamente el manejo clínico de los pacientes y aumentando la morbilidad, mortalidad y costos hospitalarios. Por ello, se necesita desarrollar métodos más rápidos y precisos, como la tecnología MALDI-TOF MS. Este estudio evalúa su aplicación en el diagnóstico de patógenos en pacientes críticos y hospitalizados, recolectando datos entre septiembre de 2023 y mayo de 2024. Los resultados muestran que MALDI-TOF MS tiene una alta concordancia con el sistema PHOENIX (coeficiente de Kappa de Cohen de 0.77) e identifica microorganismos en 5-10 minutos, comparado con las 18.33 - 24.75 horas de PHOENIX. *Escherichia coli* fue el microorganismo más frecuente (61.89%), seguido de *Staphylococcus aureus* (13.59%) y *Klebsiella pneumoniae* (12.14%). MALDI-TOF MS también detectó eficientemente el mecanismo de resistencia KPC. Se concluye que MALDI-TOF MS es altamente efectiva y precisa para la identificación rápida de microorganismos, mejorando la intervención clínica y la gestión de infecciones. Se recomienda integrarla en la rutina de diagnóstico microbiológico, proporcionar capacitación al personal y establecer programas de vigilancia de patógenos comunes y mecanismos de resistencia.

**Palabras clave:** MALDI TOF MS, PHOENIX, microorganismos, multirresistencia.

## ABSTRACT

The identification of bacteria using traditional methods is slow and laborious, negatively affecting the clinical management of patients and increasing morbidity, mortality, and hospital costs. Therefore, there is a need to develop faster and more accurate methods, such as MALDI-TOF MS technology. This study evaluates its application in the diagnosis of pathogens in critically ill and hospitalized patients, collecting data between September 2023 and May 2024. The results show that MALDI-TOF MS has a high concordance with the PHOENIX system (Cohen's Kappa coefficient of 0.77) and identifies microorganisms in 5-10 minutes, compared to PHOENIX's 18.33 - 24.75 hours. *Escherichia coli* was the most frequent microorganism (61.89%), followed by *Staphylococcus aureus* (13.59%) and *Klebsiella pneumoniae* (12.14%). MALDI-TOF MS also efficiently detected the KPC resistance mechanism. It is concluded that MALDI-TOF MS is highly effective and accurate for the rapid identification of microorganisms, improving clinical intervention and infection management. It is recommended to integrate it into routine microbiological diagnosis, provide training to personnel, and establish surveillance programs for common pathogens and resistance mechanisms.

**Keywords:** MALDI TOF MS, PHOENIX, microorganisms, multidrug resistance.

## INDICE / SUMARIO

DERECHOS DE AUTOR .....	ii
APROBACIÓN DEL TUTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN.....	iii
DEDICATORIA.....	v
AGRADECIMIENTOS .....	vi
RESUMEN .....	vii
ABSTRACT .....	viii
INTRODUCCIÓN .....	1
CAPÍTULO I: El Problema De La Investigación .....	2
1.1 Planteamiento Del Problema .....	2
1.2 Delimitación Del Problema.....	4
1.3 Formulación Del Problema.....	4
1.4 Preguntas De Investigación .....	5
1.5 Determinación Del Tema .....	5
1.6 Objetivo General .....	6
1.7 Objetivos Específicos .....	6
1.8 Declaración De Las Variables (Operacionalización).....	6
1.9 Justificación .....	8

1.10	Alcance Y Limitaciones .....	8
CAPÍTULO II: Marco Teórico Referencial .....		10
2.1	Antecedentes .....	10
2.1.1	Origen.....	10
2.1.2	Desarrollo .....	10
2.2	Contenido teórico que fundamenta la investigación .....	12
2.2.1	Espectrometría De Masas .....	12
2.2.2	Espectrometría De Masas Por Desorción/Ionización Láser Asistida Por Matriz Con Analisis En Tiempo De Vuelo Maldi Tof Ms.....	15
2.2.3	Detección De Resistencia Antimicrobiana Por MALDI TOF MS .....	20
CAPÍTULO III: Diseño Metodológico .....		22
3.1.	Tipo Y Diseño De Investigación .....	22
3.2	La Población Y La Muestra .....	22
3.2.1	Características De La Población.....	22
3.2.2	Delimitación de la población .....	23
3.2.3	Tipo De Muestra .....	24
3.2.4	Tamaño De La Muestra .....	24
3.2.5	Proceso De Selección De La Muestra .....	26
3.2.6	Métodos Y Técnicas .....	26
3.2.7	Procesamiento Estadístico De La Información .....	26

CAPÍTULO IV: Análisis E Interpretación De Resultados .....	27
4.1 Análisis De Los Resultados .....	27
4.2 Interpretación De Los Resultados .....	31
CAPÍTULO V: Conclusiones y Recomendaciones .....	33
5.1 Conclusiones .....	33
5.2 Recomendaciones .....	36
Bibliografía Referencias .....	37

## INTRODUCCIÓN

La espectrometría de masas de desorción/ionización láser asistida por matriz (MALDI-TOF MS) es una técnica innovadora que permite la identificación rápida y precisa de microorganismos a través del análisis de proteínas y otras biomoléculas. Esta técnica utiliza un láser para ionizar las muestras, generando perfiles de espectro de masas que se comparan con bases de datos para identificar el microorganismo presente. Su implementación ha transformado la microbiología clínica, proporcionando diagnósticos más rápidos y efectivos en muestras clínicas de pacientes críticos y ambulatorios. (Croxatto, 2012).

Cabe mencionar que un paciente crítico según la OMS es aquel que sufre de una o más condiciones potencialmente mortales que requieren vigilancia intensiva y un tratamiento avanzado en una Unidad de Cuidados Intensivos (UCI), el manejo de este tipo de pacientes implica un enfoque multidisciplinario, a menudo las enfermedades infecciosas representan un desafío significativo en la medicina, afectando a millones de personas globalmente. (Bizzini, 2010).

Estas enfermedades son causadas por diversos patógenos, incluidos virus, bacterias, hongos y parásitos. La identificación precisa del agente infeccioso es crucial para administrar el tratamiento adecuado y el desarrollo de nuevas tecnologías diagnósticas, como MALDI-TOF MS, ha mejorado considerablemente la capacidad de los laboratorios para detectar y caracterizar rápidamente los agentes infecciosos, lo cual es fundamental para el manejo efectivo de estas enfermedades. (Darie-Ion, 2022).

En el contexto de un paciente crítico, las infecciones pueden complicar

significativamente el pronóstico. Los pacientes en unidades de cuidados intensivos (UCI) son particularmente vulnerables a infecciones nosocomiales debido a factores como la inmunosupresión, la invasión de dispositivos médicos y la exposición a patógenos multirresistentes. Un diagnóstico rápido y preciso de las infecciones en estos pacientes es vital para iniciar un tratamiento adecuado y reducir la mortalidad y la morbilidad asociadas. (Guo, 2019).

El laboratorio de microbiología es fundamental para el diagnóstico de microorganismos; ya que, mediante técnicas específicas, se identifican y caracterizan patógenos, y se determina su susceptibilidad a diversos antibióticos, lo cual es crucial para orientar tratamientos efectivos, aunque la obtención de los resultados toma un tiempo. (Calderaro, 2024). Actualmente, la proteómica es una alternativa en el laboratorio de microbiología para dar un diagnóstico rápido y preciso de infecciones al identificar y analizar las proteínas de los microorganismos. La espectrometría de masas MALDI-TOF MS compara perfiles proteicos con bases de datos de referencia para identificar bacterias y hongos. Además, la proteómica ayuda a detectar resistencia a antibióticos, estudiar mecanismos de patogenicidad, caracterizar cepas microbianas y descubrir biomarcadores para el diagnóstico temprano de enfermedades infecciosas. (Davey, 2015).

## **CAPÍTULO I: El Problema De La Investigación**

### **1.1 Planteamiento Del Problema**

La identificación bacteriana tradicional presenta limitaciones significativas en términos de velocidad, especificidad, capacidad para identificar microorganismos difíciles de cultivar, costos y detección de patógenos emergentes. (Webster, 2012). Los

métodos convencionales, como el cultivo bacteriano seguido de pruebas bioquímicas y serológicas, son lentos y laboriosos, a menudo requiriendo varios días para obtener resultados definitivos. Además, estos métodos demandan personal altamente calificado y con experiencia específica en el campo, lo cual no siempre está disponible. (Guo, 2019).

Este retraso en la obtención de resultados impacta negativamente en el manejo clínico de los pacientes, aumentando la morbilidad, mortalidad y los costos hospitalarios. En el contexto clínico, la lentitud en la identificación de patógenos puede retrasar el inicio de un tratamiento adecuado, lo que puede empeorar la condición del paciente y prolongar la estancia hospitalaria. Ante la demora en los resultados, los médicos frecuentemente se ven obligados a iniciar tratamientos empíricos basados en la sospecha clínica. Aunque este enfoque busca controlar rápidamente la infección, conlleva riesgos asociados a la resistencia antimicrobiana y puede no ser óptimo para todos los pacientes. (Bächli, 2022).

La identificación tardía o incorrecta de patógenos puede resultar en un manejo subóptimo de las infecciones, aumentando la morbilidad y mortalidad hospitalaria. Además, los métodos tradicionales pueden retrasar la detección de brotes de infecciones nosocomiales, dificultando la implementación de medidas de control eficaces y permitiendo la propagación de infecciones dentro del hospital, afectando a más pacientes y complicando el control de infecciones. (March & Eiros, 2012).

Por lo tanto, existe una necesidad urgente de desarrollar métodos de identificación de microorganismos más rápidos, precisos y eficientes, que no solo mejoren el diagnóstico y tratamiento de infecciones, sino que también optimicen la

respuesta a brotes de infecciones nosocomiales. Este problema subraya la importancia de innovar en tecnologías diagnósticas en microbiología clínica para mejorar los resultados clínicos y reducir los costos hospitalarios. (Biswas, 2013).

## **1.2 Delimitación Del Problema**

La presente investigación se llevará a cabo en el laboratorio de microbiología del Hospital General de IESS Quito Sur, el estudio se desarrollará durante el período desde septiembre de 2023 hasta mayo de 2024, la población de estudio estará compuesta por todas las muestras clínicas (sangre, orina, esputo, aspirados traqueales, líquidos, secreciones, etc) recibidas en el laboratorio de microbiología del Hospital General del IESS Quito Sur durante el período de estudio. Se incluirán pacientes de todas las edades y géneros que presenten infecciones bacterianas y fúngicas sospechosas.

El estudio se centrará en la identificación de bacterias y hongos clínicamente relevantes utilizando la tecnología MALDI-TOF MS. Se analizarán los tiempos de identificación, la precisión de los resultados comparados con métodos tradicionales (como el cultivo y las pruebas bioquímicas), y la efectividad de MALDI-TOF MS en la identificación de microorganismos multirresistentes. Se considerarán las limitaciones inherentes a la tecnología MALDI-TOF MS, como la dependencia de una base de datos de referencia precisa y actualizada. La precisión de la identificación estará sujeta a la calidad de las muestras y a la competencia técnica del personal del laboratorio.

## **1.3 Formulación Del Problema**

En el campo de la microbiología clínica, la identificación rápida y precisa de patógenos es crucial para el diagnóstico y tratamiento efectivo de infecciones. Los métodos tradicionales, como el cultivo y las pruebas bioquímicas, pueden tardar varios

días en proporcionar resultados, lo que puede retrasar el inicio del tratamiento adecuado. La tecnología MALDI-TOF MS ha surgido como una solución potencial para acelerar este proceso.

#### **1.4 Preguntas De Investigación**

- ¿Cuál es la eficacia y precisión de MALDI-TOF MS para identificar patógenos (bacterias- hongos) en comparación con los métodos convencionales?
- ¿Cómo la técnica de MALDI-TOF MS ayuda en la identificación de microorganismos multirresistentes en muestras clínicas?
- ¿Se reduce el tiempo de acceso al tratamiento dirigido específico para los pacientes que reciben los resultados de exámenes obtenidos mediante la técnica de MALDI-TOF MS?"

#### **1.5 Determinación Del Tema**

La implementación de la metodología MALDI-TOF MS en microbiología ha revolucionado el diagnóstico y tratamiento de enfermedades infecciosas, proporcionando una identificación rápida y precisa de microorganismos patógenos en cuestión de minutos, lo que mejora significativamente la eficiencia de los laboratorios y reduce los costos operativos. En el ámbito médico, esta rapidez permite a los clínicos iniciar tratamientos antimicrobianos adecuados de manera temprana, mejorando los resultados del paciente, reduciendo la duración de las hospitalizaciones y disminuyendo la mortalidad. MALDI-TOF MS facilita la vigilancia epidemiológica y el control de brotes, y ayuda a identificar rápidamente cepas resistentes a antibióticos, contribuyendo a un manejo más eficaz y racional de las infecciones.

## 1.6 Objetivo General

Evaluar la aplicación de la proteómica a través de la tecnología MALDI-TOF para mejorar el diagnóstico de patógenos que causan enfermedades infecciosas en pacientes críticos, hospitalizados y ambulatorios del Hospital del IESS Quito Sur.

## 1.7 Objetivos Específicos

- Determinar la variabilidad de resultados mediante la técnica MALDI-TOF MS en la identificación de patógenos (bacterias) en comparación con los métodos convencionales de diagnóstico microbiológico en pacientes de ambos géneros.
- Evaluar cómo la técnica de MALDI-TOF MS facilita la identificación de microorganismos bacterianos multirresistentes en muestras clínicas.
- Investigar el impacto de la técnica de MALDI-TOF MS en la reducción del tiempo de acceso al tratamiento en pacientes con infecciones leves y graves, en contraste con los métodos diagnósticos convencionales.

## 1.8 Declaración De Las Variables (Operacionalización)

INDEPENDIENTE: Muestras de pacientes hospitalizados, pacientes de unidades críticas y pacientes ambulatorios; MALDI-TOF MS para la identificación de microorganismos.

DEPENDIENTE: Precisión, velocidad, sensibilidad y especificidad (SCORE) en la identificación, tipo de microorganismos.

Variable	Definición Operacional	Indicador(es)	Instrumento(s)	Escala de Medición
----------	------------------------	---------------	----------------	--------------------

<b>Identificación de patógenos</b>	Capacidad de MALDI-TOF para identificar microorganismos patógenos	Número de microorganismos identificados	Equipo MALDI-TOF	Nominal
<b>Tiempo de identificación</b>	Tiempo que tarda el MALDI-TOF en identificar microorganismos	Minutos/horas necesarios	Registro de tiempo	Intervalo
<b>Precisión de identificación</b>	Exactitud de las identificaciones realizadas por MALDI-TOF	Score de identificaciones correctas	Comparación con métodos tradicionales	Proporcional
<b>Adaptabilidad a distintos patógenos</b>	Capacidad del MALDI-TOF para identificar diversos tipos de patógenos	Número de tipos de patógenos identificados	Resultados de pruebas de laboratorio	Nominal

<b>Versatilidad técnica</b>	Capacidad del MALDI-TOF para adaptarse a diferentes tipos de muestras	Número de tipos de muestras analizadas	Registro de laboratorio	Nominal
-----------------------------	---	--	-------------------------	---------

### 1.9 Justificación

Las limitaciones de los métodos tradicionales de identificación microbiana representan un obstáculo para el diagnóstico oportuno y preciso de las infecciones, lo que puede tener consecuencias negativas para la salud de los pacientes y la salud pública en general. Al abordar este problema podría acelerar significativamente el proceso de diagnóstico microbiológico, mejorar los resultados clínicos de los pacientes y reducir los costos asociados al tratamiento de infecciones. La investigación proporcionará evidencia crucial sobre la viabilidad y beneficios de la utilización de MALDI-TOF MS como una herramienta estándar y tecnología innovadora en microbiología clínica, lo cual podría transformar las prácticas actuales, optimizar el manejo de infecciones en entornos hospitalarios, y mejorar significativamente la atención médica.

### 1.10 Alcance Y Limitaciones

#### ALCANCES

- Contribuir en el avance del diagnóstico médico al evaluar una tecnología innovadora para la identificación de patógenos de forma más eficiente.
- Proporcionar evidencia científica sobre la eficacia y eficiencia de la tecnología

MALDI-TOF en el diagnóstico oportuno de enfermedades infecciosas.

- Informar y mejorar las prácticas clínicas en el Hospital del IESS Quito Sur y potencialmente en otros centros de salud similares.
- Potenciar el uso de la proteómica como herramienta complementaria en el diagnóstico clínico de enfermedades infecciosas.
- Medir la sensibilidad y especificidad del MALDI-TOF para diferentes grupos de microorganismos, incluidos patógenos raros o de difícil cultivo.
- Analizar cómo la implementación de MALDI-TOF puede mejorar la detección y respuesta rápida a brotes de infecciones nosocomiales y comunitarias.

#### LIMITACIONES

- El alto costo inicial del equipo MALDI-TOF puede limitar su accesibilidad en algunos laboratorios.
- La operación del MALDI-TOF requiere personal capacitado, lo que puede representar una barrera en laboratorios con recursos limitados.
- La precisión del MALDI-TOF depende de la calidad y el alcance de la base de datos de espectros disponible, que puede no cubrir todos los microorganismos posibles.
- Diferencias en la preparación y manejo de las muestras pueden afectar la reproducibilidad y precisión de los resultados.
- En algunos casos, es necesario un cultivo previo de las muestras, lo que puede aumentar el tiempo total de diagnóstico.

## CAPÍTULO II: Marco Teórico Referencial

### 2.1 Antecedentes

La espectrometría de masas por tiempo de vuelo asistida por matriz con desorción/ionización láser (MALDI-TOF MS) es una técnica analítica empleada en química y bioquímica para identificar y caracterizar una variedad amplia de compuestos químicos y biomoléculas como proteínas, péptidos, carbohidratos y ácidos nucleicos. (Bizzini, 2010). Esta técnica combina la sensibilidad y precisión de la espectrometría de masas con la capacidad de desorción e ionización suave proporcionada por una matriz y un láser. Actualmente, la MALDI-TOF MS se utiliza extensamente en la microbiología clínica médica para identificar una diversidad de microorganismos, incluyendo bacterias, micobacterias, levaduras y hongos filamentosos. (Kumar A. S., 2024).

#### 2.1.1 Origen

En los años 80, Michael Karas y Franz Hillenkamp desarrollaron los principios fundamentales de la MALDI. Ellos demostraron que era posible ionizar moléculas en una matriz utilizando un láser pulsado, y llamaron a esta técnica "desorción/ionización por láser" (LDI). (Venezia, 2014). Más tarde, en 1988, Koichi Tanaka creó una técnica parecida, a la que llamó "desorción/ionización por láser asistida por matriz" (MALDI). Tanaka usó una matriz de 3,5-dimetoxi-4-hidroxiacetanilida (DHB) y mostró que la MALDI podía ionizar proteínas y otras grandes biomoléculas. (Belkum, 2015).

#### 2.1.2 Desarrollo

Durante la década de 1990, uno de los avances tecnológicos más significativos fue la comercialización de los primeros espectrómetros de masas MALDI-TOF. Esto permitió que una comunidad científica más amplia tuviera acceso a esta tecnología. En

ese tiempo, se optimizaron las matrices utilizadas en el proceso, como el ácido sinapínico y el ácido  $\alpha$ -ciano-4-hidroxicinámico, lo que mejoró la ionización y redujo la fragmentación. Además, en la misma década, se produjeron avances en los detectores de espectrometría de masas, incluyendo los detectores de microcanales y de multicanal, aumentando así la sensibilidad y la resolución del análisis. (Webster, 2012). A principios de los años 2000, la técnica MALDI-TOF MS se convirtió en una herramienta estándar en proteómica para la identificación y caracterización de proteínas. (Singhal, 2016). En el ámbito de la microbiología clínica, los laboratorios comenzaron a utilizar MALDI-TOF MS para la identificación rápida de bacterias y hongos, revolucionando así el diagnóstico microbiológico. Además, se desarrollaron sistemas automatizados que permitían el análisis de grandes volúmenes de muestras con alta reproducibilidad y rapidez. (Jang, 2018).

En la década de 2010, se desarrollaron tecnologías híbridas que combinaban MALDI con otras técnicas de espectrometría de masas, mejorando la sensibilidad y el rango de análisis. Además, hubo mejoras en el software y las bases de datos, facilitando la interpretación de espectros. (Bizzini, 2010). MALDI-TOF MS ofrece numerosas ventajas revolucionando la microbiología clínica, ya que permite una identificación rápida y precisa de microorganismos, menor costo operativo y una reducción en la necesidad de pruebas adicionales (Bächli, 2022).

Desde su invención, la espectrometría de masas (MS) ha sido un método complejo, utilizado principalmente en laboratorios de hematología y química para analizar perfiles proteicos. En 1975, Anhalt y Fenselau fueron pioneros en la identificación de microorganismos mediante MS al generar espectros de masa únicos a

partir de extractos bacterianos de diferentes géneros y especies. (Florio, 2023). A principios de la década de 1980, se desarrollaron técnicas de desorción/ionización, como la desorción por plasma, desorción por láser y bombardeo atómico rápido, que permitieron ionizar analitos biomoleculares y enfocarse en obtener perfiles bacterianos, aunque en ese momento solo se podían analizar moléculas de bajo peso molecular. (Cho, 2015). Esto llevó al desarrollo de técnicas de ionización suave, como la desorción/ionización por láser asistida por matriz (MALDI) y la ionización por electrospray (ESI). Estas técnicas permitieron obtener perfiles proteicos en un amplio rango de pesos moleculares sin fragmentar las moléculas. (Bächli, 2022).

Desde finales del siglo XX, el uso de MALDI-TOF ha aumentado significativamente para identificar hongos, virus y bacterias, siendo una técnica rápida y económica. (Schubert & Kostrzewa, 2017).

## **2.2 Contenido teórico que fundamenta la investigación**

### **2.2.1 Espectrometría De Masas**

#### **2.2.1.1 Introducción A La Espectrometría De Masas**

La espectrometría de masas es una técnica analítica que se utiliza en varios campos científicos como la química, biología, medicina y ciencias forenses. Esta técnica permite identificar y cuantificar moléculas de manera precisa al medir la relación masa/carga ( $m/z$ ) de los iones generados a partir de la muestra analizada. La espectrometría de masas no solo ayuda a identificar compuestos desconocidos, sino que también permite estudiar las estructuras moleculares y las composiciones elementales. Desde su invención en el siglo XX, la espectrometría de masas ha evolucionado considerablemente, incorporando nuevas tecnologías y metodologías que han ampliado su aplicación y precisión. (Vaishampayan, 2023).

### 2.2.1.2 Fundamentos De La Espectrometría De Masas

La espectrometría de masas se lleva a cabo en tres etapas principales: ionización, análisis y detección. Durante la ionización, las moléculas de la muestra se convierten en iones mediante una fuente de energía, que puede variar. Las fuentes más comunes son la ionización por electrospray (ESI) y la desorción/ionización por láser asistida por matriz (MALDI). La ionización es fundamental porque permite manipular y detectar las moléculas en el espectrómetro de masas. (Bizzini, 2010). En la etapa de análisis, los iones generados se separan según su relación masa/carga ( $m/z$ ) utilizando un analizador de masas. Hay varios tipos de analizadores, como el tiempo de vuelo (TOF), el cuadrupolo y la trampa de iones, cada uno con ventajas específicas para diferentes aplicaciones. (Belkum, 2015).

Finalmente, en la etapa de detección, los iones separados se detectan, generando un espectro de masas que muestra la distribución de los diferentes iones en la muestra. (Becker, 2024). Es así que las etapas se detallan a continuación:

**IONIZACIÓN:** La ionización es el primer paso en la espectrometría de masas, donde las moléculas de la muestra se convierten en iones. Existen varios métodos de ionización, cada uno adecuado para diferentes tipos de muestras y aplicaciones. La ionización por electrospray (ESI) y la desorción/ionización por láser asistida por matriz (MALDI) son dos de las técnicas más comunes.

**Ionización por electrospray (ESI):** ESI es particularmente útil para ionizar biomoléculas grandes y polares, como proteínas y péptidos. En ESI, una solución de la muestra se nebuliza y se aplica un alto voltaje, lo que resulta en la formación de gotículas cargadas. A medida que el solvente se evapora, las cargas se transfieren a las moléculas, produciendo iones que pueden ser analizados por el espectrómetro de

masas. (Bächli, 2022).

Desorción/ionización por láser asistida por matriz (MALDI): Desarrollada por Karas y Hillenkamp (1988), MALDI es ideal para analizar biomoléculas de alto peso molecular con mínima fragmentación. En esta técnica, la muestra se mezcla con una matriz química que absorbe la energía del láser y facilita la ionización. Cuando el láser impacta sobre la matriz, esta se vaporiza y transfiere energía a las moléculas de la muestra, ionizándolas sin causar fragmentación significativa. (Calderaro, 2024).

**ANÁLISIS DE MASAS:** Una vez ionizadas, las moléculas se dirigen al analizador de masas, donde se separan según su relación masa/carga ( $m/z$ ). Existen varios tipos de analizadores de masas, cada uno con sus características y aplicaciones específicas:

**Tiempo de vuelo (TOF):** El analizador TOF mide el tiempo que tardan los iones en recorrer una distancia fija. Los iones más ligeros llegan al detector más rápido que los más pesados, permitiendo su separación basada en la relación masa/carga. Este tipo de analizador es conocido por su alta resolución y capacidad para analizar una amplia gama de masas. (Barth, 2020).

**Cuadrupolo:** Introducido por Yost y Enke (1979), el cuadrupolo utiliza campos eléctricos oscilantes para filtrar iones de diferentes  $m/z$ . Solo los iones con una relación  $m/z$  específica pueden pasar a través del cuadrupolo en un momento dado. Esta técnica es útil para el análisis cuantitativo y se combina frecuentemente con otras técnicas de espectrometría de masas. (Becker, 2024).

**Trampa de iones:** Este tipo de analizador atrapa iones en un campo eléctrico oscilante, permitiendo su acumulación y posterior liberación secuencial. La trampa de iones es versátil y permite realizar experimentos de espectrometría de masas en

tándem (MS/MS), lo cual es útil para la elucidación estructural de moléculas complejas. (Brown, 2023).

**DETECCIÓN:** La etapa final en la espectrometría de masas es la detección de los iones separados por su  $m/z$ . Los detectores de iones convierten la llegada de los iones en una señal eléctrica, que se registra como un espectro de masas. Este espectro muestra la intensidad de los iones en función de su relación masa/carga, proporcionando información detallada sobre la composición y estructura de las moléculas en la muestra (Cherkaoui, 2010).

## ***2.2.2 Espectrometría De Masas Por Desorción/Ionización Láser Asistida Por Matriz Con Analisis En Tiempo De Vuelo Maldi Tof Ms***

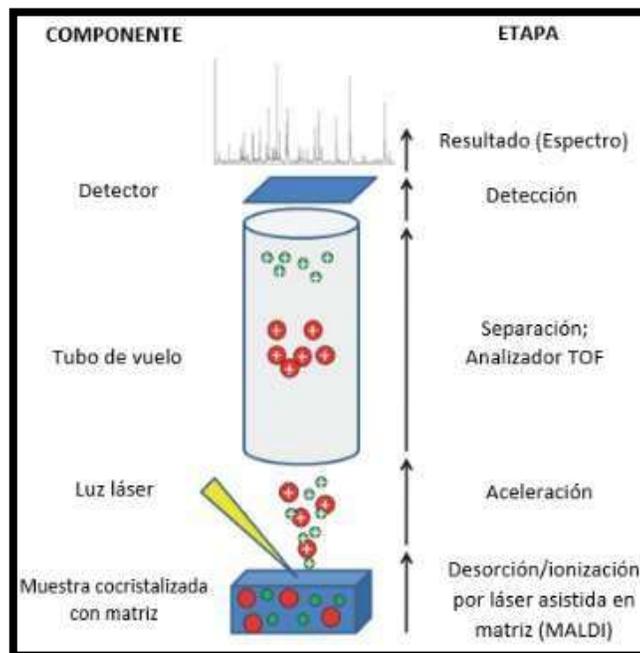
### **2.2.2.1 Principio De Funcionamiento Y Proceso De Análisis**

En MALDI-TOF MS, las muestras se mezclan con una matriz HCCA adecuada que absorbe la energía del láser y ayuda en la desorción e ionización de las moléculas de la muestra cuando se expone a pulsos láser. La matriz, generalmente un compuesto orgánico cristalino, protege a las moléculas de la muestra de la degradación térmica y facilita la transferencia de energía necesaria para su ionización. El proceso de MALDI-TOF MS se divide en dos fases: la ionización por MALDI y la detección en el analizador por tiempo de vuelo. En la fase de ionización por MALDI, la muestra se mezcla con una matriz que absorbe la energía del láser; esta matriz, junto con la muestra, se evapora rápidamente bajo el impacto del láser, creando una nube de vapor que arrastra las moléculas de la muestra. Este proceso convierte las moléculas en iones, que son moléculas cargadas eléctricamente (Bächli, 2022). En la fase de detección en el analizador por tiempo de vuelo, los iones son acelerados por un campo eléctrico y

viajan a través de un tubo de vacío. El tiempo que tardan los iones en llegar al detector depende de su relación masa/carga ( $m/z$ ); es decir, los iones con mayor  $m/z$  tardan más tiempo en llegar al detector, mientras que los iones con menor  $m/z$  tardan menos tiempo. Esta diferencia en el tiempo de vuelo se mide y se utiliza para crear un espectro de masas, una gráfica que representa la abundancia de iones en función de su  $m/z$  (Cherkaoui, 2010) (Ilustración 1).

### Ilustración 1.

*Esquema gráfico sobre el proceso de funcionamiento de la metodología MALDI TOF*



*Nota:* La imagen ilustra el proceso de la espectrometría de masas MALDI-TOF.

Comienza con la ionización de la muestra cocrystalizada con una matriz mediante un láser, seguida de la aceleración y separación de los iones en el tubo de vuelo, y culmina con la detección de los iones para generar un espectro de masas. Adaptado: (Croxatto, 2012).

Un aspecto crucial de la espectrometría de masas en microbiología clínica es la

creación de perfiles de masas específicos para cada especie y cepa de microorganismos, permitiendo una identificación precisa. MALDI-TOF MS permite la identificación rápida de bacterias, hongos y levaduras en minutos, lo que acelera el diagnóstico y tratamiento de infecciones, siendo altamente sensible y específico, incluso en muestras con baja carga bacteriana (Burckhardt, 2018).

Estos perfiles se generan mediante la ionización de proteínas y péptidos de los microorganismos, desorbidos e ionizados por un láser de alta energía en presencia de una matriz (Wang, 2020). La identificación se basa en la comparación de estos perfiles con una base de datos de referencia que contiene espectros de masa de diversas cepas bacterianas y fúngicas, logrando una identificación precisa y confiable (Zambonin, 2022).

#### **2.2.2.2 Comparación Con Bases De Datos**

La identificación de microorganismos mediante espectrometría de masas se basa en la comparación del espectro de masas obtenido con una base de datos de referencia que contiene perfiles proteicos de una amplia variedad de microorganismos (Tsuchida, 2020). El software del espectrómetro de masas analiza el espectro de la muestra y lo compara con los espectros de referencia para identificar a los microorganismos presentes con alta precisión en solo unos minutos. La precisión y cobertura de la base de datos son cruciales para el éxito de la identificación (Schubert & Kostrzewa, 2017).

Existen varias bases de datos utilizadas en MALDI-TOF MS, destacándose las comerciales Bruker Biotyper y VITEK MS. Bruker Biotyper contiene miles de perfiles de referencia para diversas especies bacterianas y fúngicas, actualizándose regularmente

para mejorar la precisión de la identificación (Biswas, 2013). El sistema VITEK MS, desarrollado por bioMérieux, ofrece una amplia cobertura de microorganismos clínicamente relevantes y se actualiza periódicamente para incluir nuevas entradas (Tsuchida, 2020). Ambos sistemas utilizan algoritmos y puntuaciones para indicar la similitud a nivel de género y especie, proporcionando una identificación precisa y rápida (Moreno, 2017; Darie-Ion, 2022).

Además de las bases de datos comerciales, existen bases de datos personalizadas como SARAMIS, que permiten la creación de "Super Espectros" representativos de diferentes entornos específicos, mejorando la precisión en la identificación (Kumar A. S., 2024). La configuración IVD del sistema VITEK MS utiliza porcentajes de probabilidad para indicar la precisión de la identificación, con valores cercanos a 99.9% indicando alta precisión (Kumar K. N., 2021). La combinación de bases de datos comerciales y personalizadas mejora significativamente la precisión de la identificación, como demostró (Christner et al., 2014).

### **2.2.2.3. Identificación De Microorganismos Mediante MALDI TOF MS**

#### **2.2.2.3.1. Muestras Biológicas**

La identificación de microorganismos directamente a partir de muestras biológicas es una de las aplicaciones más relevantes y con mayor impacto clínico de la tecnología MALDI-TOF MS (Davey, 2015). Diversos protocolos se han desarrollado y validado para superar algunas de las limitaciones de la identificación directa mediante MALDI-TOF MS, tales como la interferencia de proteínas humanas y el medio de cultivo en hemocultivos, así como la necesidad de una alta densidad de microorganismos para obtener un espectro proteico confiable y específico. La técnica MALDI-TOF MS requiere aproximadamente  $10^5$  unidades formadoras de colonias para obtener una

cantidad suficiente de proteínas que permita generar un espectro claro y preciso (Kumar K. N., 2021).

Por ejemplo, en hemocultivos positivos, se emplean varios métodos de preparación de muestras para análisis en sangre. Algunos utilizan tubos con gel separador para aislar eritrocitos y proteínas, mientras que otros aplican lisis celular con ácido fórmico o ácido trifluoroacético, centrifugaciones diferenciales o filtración. Ferreira y colaboradores en el año 2017, propusieron un protocolo que incluye centrifugación a baja velocidad para eliminar leucocitos, seguida de una centrifugación a alta velocidad para concentrar bacterias y una extracción con etanol absoluto, ácido fórmico al 70% y acetonitrilo. (Wang, 2013).

Por otro lado, en muestras de orina, la confirmación microbiológica puede tardar entre 24 y 48 horas, lo que retrasa el inicio de una terapia antibiótica empírica adecuada para infecciones del tracto urinario (ITU). El uso de MALDI-TOF MS permite una identificación rápida y directa de los microorganismos en las muestras de orina, complementándose con pruebas de tamización iniciales para detectar la positividad de las muestras. (Wang, 2013).

#### **2.2.2.3.2. Identificación Bacteriana**

La identificación bacteriana mediante MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time of Flight) es un método que utiliza la espectrometría de masas para identificar rápidamente microorganismos a partir de sus perfiles proteicos. El proceso comienza con la preparación de la muestra bacteriana, se introduce en el espectrómetro de masas MALDI-TOF, donde un láser de alta energía ioniza y desorbe las moléculas al estado gaseoso. La matriz absorbe la energía del láser y la transfiere a las moléculas de la muestra, generando iones cargados que se analizan en función de

su relación masa/carga ( $m/z$ ). Un láser ioniza las proteínas de la muestra, y estos iones son aceleradas en un campo eléctrico hacia un detector (Kumar A. S., 2024). El tiempo de llegada se registra y se transforma en un espectro de masas, que muestra la intensidad de los iones en función de su relación masa/carga ( $m/z$ ), creando así un "perfil proteico" distintivo del microorganismo (Kumar K. N., 2021). Este perfil proteico característico se compara con bases de datos de referencia para identificar la especie bacteriana (Croxatto, 2012).

#### **2.2.2.3.3. Identificación De Hongos Y Levaduras**

En la identificación de hongos y levaduras se debe preparar la muestra para cultivarla en un medio adecuado para obtener colonias puras. Una pequeña cantidad de la colonia se transfiere a una placa de MALDI y se mezcla con ácido  $\alpha$ -ciano-4-hidroxicinámico, una matriz que ayuda a ionizar las moléculas proteicas sin fragmentarlas durante la desorción láser (Lau, 2019). Una vez que la muestra está preparada y seca en la placa de MALDI, se coloca en el espectrómetro de masas. Un láser de alta energía impacta la muestra, causando la ionización y desorción de las proteínas. La matriz absorbe la energía del láser y transfiere esa energía a las moléculas de la levadura, convirtiéndolas en iones sin causar una fragmentación significativa, permitiendo la generación de un espectro de masas que refleja el perfil proteico específico de los hongos o de las levaduras (Murugaiyan, 2017).

#### **2.2.3 Detección De Resistencia Antimicrobiana Por MALDI TOF MS**

La detección de resistencia antimicrobiana es una tarea crítica en microbiología clínica, esencial para la administración efectiva de tratamientos antibióticos y el control de infecciones y la espectrometría de masas por desorción/ionización (MALDI-TOF MS) ha emergido como una herramienta prometedora de detección rápida y precisa para la

resistencia antimicrobiana.

### **2.2.3.1. Métodos De Detección De Resistencia**

**DETECCIÓN DIRECTA DE ENZIMAS:** MALDI-TOF MS puede detectar enzimas que confieren resistencia a los antibióticos, como las  $\beta$ -lactamasas, estas enzimas hidrolizan antibióticos  $\beta$ -lactámicos, lo que puede ser detectado mediante la identificación de productos de degradación en el espectro de masas. (Sparbier, 2012).

**HIDROLISIS DE ANTIBIÓTICOS:** La muestra bacteriana se incuba con un antibiótico específico y luego se utiliza MALDI-TOF MS para detectar los productos de degradación del antibiótico, con la presencia de estos productos se indica la actividad de enzimas resistentes (Burckhardt, 2011).

**PERFILES PROTEICOS:** MALDI-TOF MS genera perfiles proteicos de las bacterias que pueden incluir picos específicos asociados con proteínas de resistencia. Comparando estos perfiles con bases de datos, es posible identificar cepas resistentes (Emonet, 2010).

La tecnología MALDI-TOF MS se ha aplicado exitosamente a la detección de mecanismos de resistencia antimicrobiana, especialmente en la identificación de  $\beta$ -lactamasas. Por ejemplo las bacterias productoras de  $\beta$ -lactamasas hidrolizan el anillo  $\beta$ -lactámico del antibiótico, lo que se detecta como un cambio en las masas de las formas no hidrolizadas a las hidrolizadas en el espectro de masas (Guo, 2019). Sparbier y colaboradores demostraron que la hidrólisis del anillo  $\beta$ -lactámico resulta en la desaparición del pico original del antibiótico y un desplazamiento de +18 Da, seguido de una descarboxilación que desplaza la masa -44 Da, cambios que son fácilmente detectables por MALDI-TOF MS (Hammond, 2014). También se ha utilizado para

detectar cepas de E. coli productoras de BLEE mediante picos específicos en el espectro de masas.

## **CAPÍTULO III: Diseño Metodológico**

### **3.1. Tipo Y Diseño De Investigación**

La investigación realizada se clasifica como observacional, con un enfoque cuantitativo. Este tipo de investigación se caracteriza por observar y analizar variables sin intervenir ni manipularlas, permitiendo un análisis descriptivo y analítico de los resultados. Al ser una investigación no experimental, no hubo intervención activa ni control sobre las variables estudiadas, es decir, no se aplicaron tratamientos ni se modificaron las condiciones del estudio. En este contexto, los datos se recopilaban de manera objetiva y se representaron en tablas y gráficos, permitiendo medir y analizar la utilidad de MALDI-TOF MS en la identificación de microorganismos en muestras clínicas.

El diseño del estudio fue no experimental, retrospectivo de corte transversal, lo que significa se basó en datos recolectados definiendo un periodo específico desde septiembre 2023 a mayo 2024. Este enfoque permite examinar eventos que ya han ocurrido y analizar las tendencias y patrones en los datos históricos.

### **3.2 La Población Y La Muestra**

#### **3.2.1 Características De La Población**

El estudio se centra en el análisis de muestras clínicas microbiológicas de orina, sangre, heces, secreciones, esputos, etc. de todos los pacientes género masculino y femenino, no posee rango etario es decir que abarcan a pacientes de todas las edades, quienes están hospitalizados, en terapia intensiva adulto, pediátrico y neonatal del

hospital general IESS Quito Sur.

### **3.2.2 Delimitación de la población**

Criterios de Inclusión:

- Pacientes críticos y hospitalizados del Hospital del IESS Quito Sur
- Pacientes ingresados desde septiembre del 2023 hasta mayo de 2024.
- Muestras clínicas que incluyen sangre, orina, esputo, líquido cefalorraquídeo, heridas, etc., con sospecha de infección bacteriana.
- Muestras con resultados positivos para crecimiento bacteriano en cultivos tradicionales.
- Pacientes de todas las edades, géneros y antecedentes médicos que requieran diagnóstico microbiológico.

Criterios de exclusión:

- Muestras clínicas que no presentan crecimiento bacteriano en cultivos tradicionales.
- Pacientes ambulatorios o no hospitalizados.
- Resultados que no hayan sido identificados por la metodología MALDI TOF MS.
- Registros de resultados que no tiene resultado de métodos convencionales de cultivo.
- Muestras clínicas que no cumplan con los criterios de calidad o cantidad

establecidos en el protocolo

- Pacientes que hayan recibido antibióticos en las 48 horas previas a la recolección de la muestra.

### **3.2.3 Tipo De Muestra**

La muestra obtenida se clasifica como una muestra probabilística, específicamente un muestreo aleatorio simple con un nivel de confiabilidad del 95%. El muestreo aleatorio simple asegura que todos los elementos de la población tengan la misma oportunidad de ser seleccionados, lo que aumenta la representatividad de la muestra y permite realizar inferencias válidas sobre la población general de los pacientes críticos y hospitalizados atendidos en el Hospital del IESS Quito Sur durante el período septiembre del 2023 hasta mayo de 2024.

### **3.2.4 Tamaño De La Muestra**

- Población de estudio: Pacientes críticos y hospitalizados en el Hospital general IESS Quito Sur durante el periodo de septiembre 2023 a mayo 2024.
- Nivel de confianza y margen de error: Nivel de confianza: 95%. Margen de error: 5%
- Variabilidad de la población: Proporción estimada de muestras con identificación correcta: 50% (0.5) debido a la falta de datos previos específicos.

Cálculo inicial del tamaño de la muestra:

$$n = \frac{1.96^2 \cdot 0.5 \cdot (1 - 0.5)}{0.05^2} = \frac{3.8416 \cdot 0.25}{0.0025} = 384.16$$

El tamaño de la muestra ajustado es de 385 pacientes, lo que asegura un nivel de confianza del 95% y un margen de error del 5%.

- Cálculo de coeficiente Kappa de Cohen

El coeficiente Kappa de Cohen es particularmente útil en situaciones donde se desea medir la fiabilidad de observaciones categóricas entre dos métodos, como en estudios clínicos, investigaciones psicológicas y, en este caso, la identificación de microorganismos entre dos métodos diferentes (MALDI TOF MS y PHOENIX).

Se calcula de la siguiente manera:

$$K = \frac{P_o - P_e}{1 - P_e}$$

**P<sub>o</sub>**: es la proporción de veces que los evaluadores estuvieron de acuerdo.

**P<sub>e</sub>**: es la proporción de veces que se esperaría que los evaluadores estuvieran de acuerdo por azar.

Interpretación de los Valores de Kappa

**0.01 - 0.20**: Acuerdo leve

**0.21 - 0.40**: Acuerdo justo

**0.41 - 0.60**: Acuerdo moderado

**0.61 - 0.80**: Acuerdo sustancial

**0.81 - 1.00**: Acuerdo casi perfecto

Un valor de Kappa alto indica un alto grado de acuerdo entre los métodos, mientras que un valor bajo sugiere que los métodos no están de acuerdo más allá de lo que se esperaría por azar.

### **3.2.5 Proceso De Selección De La Muestra**

- Dividir la población de estudio en estratos basados en criterios relevantes (por ejemplo, tipo de muestra, género, etc).
- Dentro de cada estrato, seleccionar aleatoriamente a los pacientes utilizando un generador de números aleatorios, mediante el uso del software Excel.
- Asegurar que la muestra total tenga representación proporcional de cada estrato.

### **3.2.6 Métodos Y Técnicas**

- Recolección de Datos Cuantitativos:

Muestras Clínicas: Recolección de 385 muestras de sangre, orina, esputo, tejidos, etc. de pacientes críticos y hospitalizados.

Identificación Bacteriana: Uso de MALDI-TOF MS y métodos de cultivo tradicional para identificar bacterias presentes en las muestras.

- Análisis de Datos Cuantitativos:

Estadísticas Descriptivas: Cálculo de la proporción de identificaciones correctas para cada método.

Estadísticas Inferenciales: Prueba chi-cuadrado para comparar la precisión de los dos métodos.

### **3.2.7 Procesamiento Estadístico De La Información**

Para el análisis de los resultados se utilizó la base de datos de resultados obtenidos en el periodo de septiembre de 2023 a mayo de 2024, se utilizó la plataforma Excel y software estadístico SPSS, Google Colab de manera gratuita y sistemas de IA

para la obtención de gráficos explicativos.

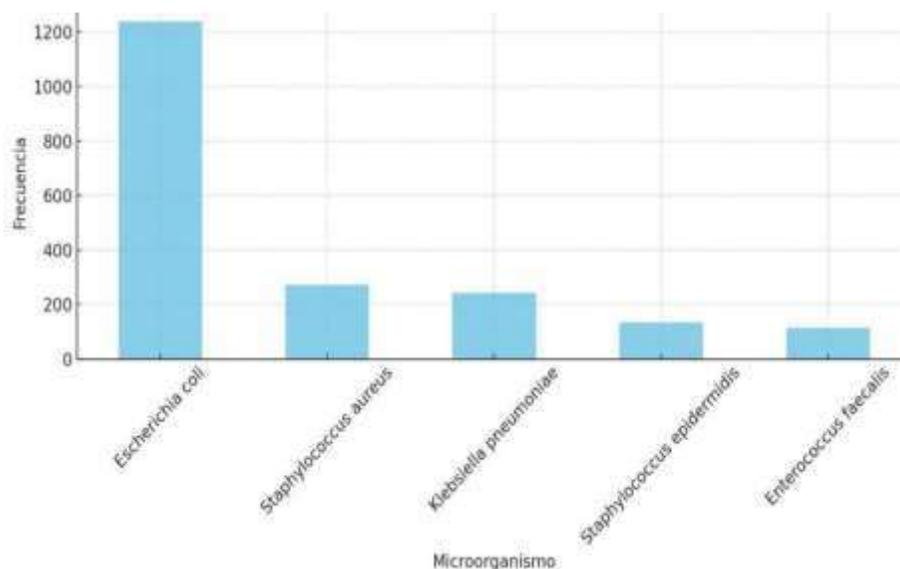
## CAPÍTULO IV: Análisis E Interpretación De Resultados

### 4.1 Análisis De Los Resultados

El microorganismo más frecuente identificado por la metodología MALDI TOF MS o por el método convencional, es el patógeno *Escherichia coli*, con 1239 identificaciones representando el 61.89%, seguido de *Staphylococcus aureus*, con un total de 239 identificaciones que corresponde al 13.59%, en tercer lugar se encuentra el microorganismo *Klebsiella pneumoniae*, con un total de 243 identificaciones alrededor del 12.14%, en cuarto y quinto lugar están los microorganismos *Staphylococcus epidermidis* y *Enterococcus faecalis*, con 134 y 114 identificaciones, con un valor porcentual de 6.69% y 5.69% respectivamente (Figura 1).

#### Figura 1.

Frecuencia de microorganismos

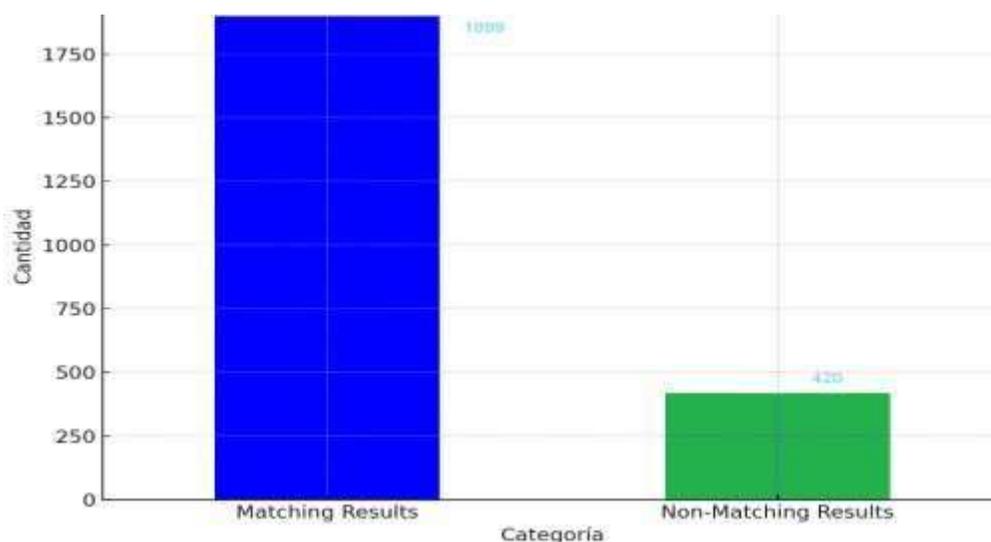


*Nota: Escherichia coli* es el microorganismo más común con una frecuencia significativamente mayor respecto a los otros cuatro microorganismos con 1239 identificaciones.

La metodología MALDI TOF MS comparado con PHOENIX presenta un coeficiente de KAPPA DE COHEN aproximado de 0.77, este valor indica un acuerdo sustancial entre los métodos MALDI TOF MS (Proteómica) y PHOENIX (Tradicional), ya que ambos métodos son bastante consistentes en la identificación de microorganismos (Figura 2).

**Figura 2.**

*Relación de microorganismos identificados correctamente entre los métodos MALDI TOF y PHOENIX.*



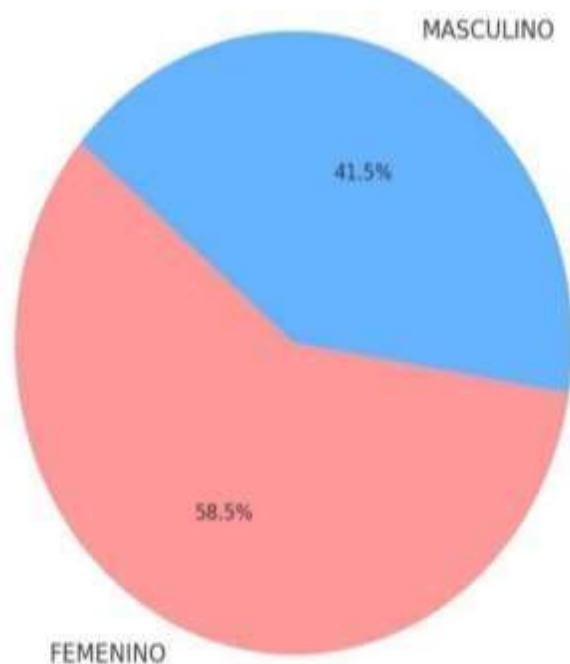
*Nota:* El gráfico muestra la cantidad de resultados emitidos en concordancia entre las dos metodologías en estudio MALDI TOF MS y PHOENIX, donde se visualiza que, de un total de 2319 aislados, 1899 resultados fueron identificados de manera similar entre las dos metodologías mientras que 420 fueron diferentes comparando las dos metodologías, obteniendo así un coeficiente de KAPPA de Cohen de 0.77.

La mayoría de muestras fueron provenientes de pacientes de género femenino con 1678 identificaciones con un valor porcentual del 58.55%, mientras que el género

masculino presenta 1188 identificaciones realizadas, con un total del 41.45% del total de casos. Así mismo dentro de los pacientes que más frecuencia se observan son los que están hospitalizados en unidades críticas, con un total de 12 apariciones en diversas fechas (Figura 3).

**Figura 3.**

*Identificación de patógenos según género.*



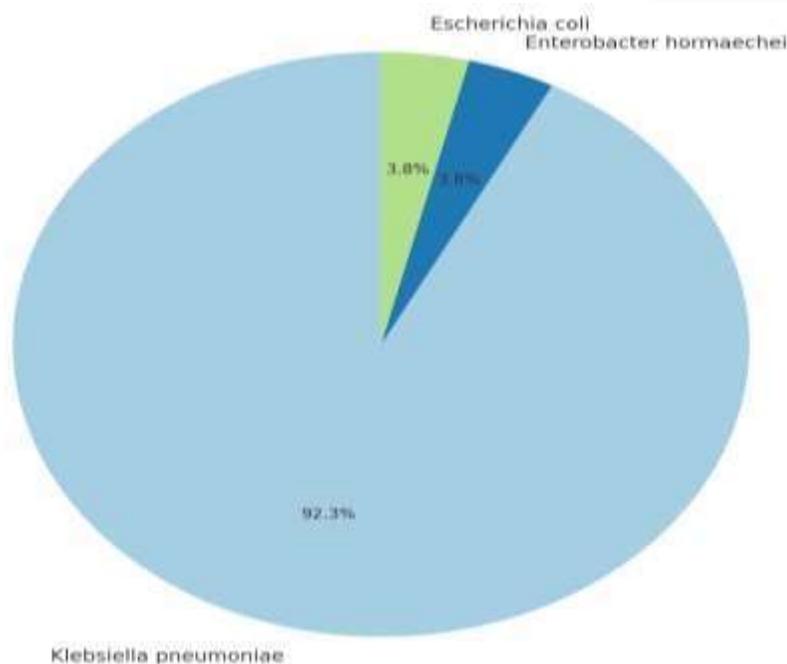
*Nota:* El gráfico muestra la distribución de los resultados en base al género del paciente analizado, donde el 41.5% corresponde al género masculino y el 58.5% corresponde al género femenino.

En relación a detección de mecanismos de resistencia en base al espectro y comparado con la base de datos se obtuvo que el único mecanismo de resistencia detectado fue KPC que indica resistencia del microorganismo a los antibióticos carbapenémicos, el microorganismo que con más frecuencia se detecta con esta resistencia es *Klebsiella pneumoniae* KPC, de un total de 26 identificaciones 24

corresponden a este microorganismo, mientras que 1 identificación corresponde a *Escherichia coli* KPC, y 1 identificación más corresponde a *Enterobacter hormaechei* KPC (Figura 4).

**Figura 4.**

*Frecuencia de microorganismo con mecanismo de resistencia*



*Nota:* El gráfico muestra la distribución de los resultados que se obtuvieron en referencia a resistencias bacterianas diagnosticadas por MALDI TOF MS. *Klebsiella pneumoniae* es el microorganismo predominante, representando más del 92.3% de los casos, mientras que *Escherichia coli* y *Enterobacter hormaechei* tienen una presencia mucho menor, cada uno con un 3.8% de los casos.

En cuanto a la velocidad de identificación, el sistema PHOENIX tarda entre 18.33 y 24.75 horas, con una mediana de 22 horas después de obtener los primeros resultados de MALDI TOF MS. Esto significa que, según los registros de la base de datos, PHOENIX es más lento que MALDI TOF MS por unas 22 horas. Por otro lado,

MALDI TOF MS identifica microorganismos mucho más rápido, tardando en promedio entre 5 y 10 minutos, con una mediana de 7.5 minutos.

**Tabla 1.**

*Velocidad en la identificación de microorganismos comparando la metodología*

<b>METODOLOGIA MALDI TOF MS</b>	<b>METODOLOGIA PHOENIX</b>
Primer resultado obtenido entre 5-10 minutos	Primer resultado obtenido entre 18.33-24.75 horas.
La mediana en la obtención de resultados es 7.5 minutos.	La mediana en la obtención de un resultado es 22 horas.

#### **4.2 Interpretación De Los Resultados**

El estudio de Lagacé-Wiens y colaboradores en el año 2012, utilizaron el kit Sepsityper® (Bruker Daltonik GmbH) y el análisis por MALDI Biotyper® en 61 hemocultivos monomicrobianos y dos polimicrobianos, encontró una concordancia del 95.1% comparado con métodos convencionales, reduciendo el tiempo promedio de obtención de resultados en 34.3 horas en condiciones ideales y 26.5 horas en situaciones prácticas, mientras que en este estudio se demostró que el primer registro de MALDI TOF MS con respecto a PHOENIX es después de 22 horas.

La concordancia en identificación entre MALDI TOF MS y PHOENIX en este estudio es del 80.25%, mientras que en un estudio con 318 hemocultivos positivos, encontraron una concordancia del 96.6% a nivel de género y del 83.3% a nivel de especie para bacilos gram-negativos utilizando el espectrómetro Auto-flex III (Bruker

Daltonics Inc.), mientras que la concordancia para microorganismos gram-positivos fue menor (64.8% y 31.8% respectivamente). De la misma manera en un estudio realizado por Wang y colaboradores en el año 2013, se compararon los resultados de los métodos tradicionales de urocultivo con los obtenidos mediante MALDI-TOF MS usando un espectrómetro Auto-flex III (Bruker Daltonics Inc.) acoplado a citometría de flujo (UF-1000i) para tamizar las muestras positivas de individuos con síntomas de infección urinaria. Los resultados del MALDI-TOF MS fueron consistentes con los métodos convencionales en 1373 de 1456 muestras (94.3%), incluyendo 982 muestras negativas. La concordancia en la identificación de microorganismos fue del 90.0% en muestras monomicrobianas, mientras que, en muestras con dos microorganismos, el MALDI-TOF MS identificó ambos en el 9.0% de los casos.

Burckhardt y Zimmermann (2011) llevaron a cabo un estudio sobre la detección de carbapenemasas en enterobacterias utilizando MALDI-TOF MS. En su estudio, demostraron que esta técnica podía identificar cepas productoras de carbapenemasas mediante la detección de productos de degradación de imipenem en el espectro de masas. Los resultados mostraron una alta sensibilidad y especificidad, destacando la utilidad de MALDI-TOF MS en la detección rápida de resistencia a los carbapenémicos.

Sparbier et al. (2012) también investigaron la detección de  $\beta$ -lactamasas, incluyendo las carbapenemasas, en bacterias gramnegativas utilizando MALDI-TOF MS. Su estudio demostró la capacidad de esta técnica para detectar rápidamente la presencia de estas enzimas mediante la identificación de productos de hidrolisis de antibióticos en el espectro de masas, en el presente análisis también existe evidencia sobre la identificación de carbapenemasas tipo KPC en aislados con *Klebsiella*

*pneumoniae* KPC, de un total de 26 identificaciones 24 corresponden a este microorganismo, mientras que 1 identificación corresponde a *Escherichia coli* KPC, y 1 identificación más corresponde a *Enterobacter hormaechei* KPC.

## CAPÍTULO V: Conclusiones y Recomendaciones

### 5.1 Conclusiones

- El análisis comparativo entre la metodología MALDI TOF MS y el sistema PHOENIX revela una concordancia sustancial en la identificación de microorganismos, con un coeficiente de Kappa de Cohen aproximado de 0.77. Este valor sugiere que ambas técnicas, a pesar de sus diferencias metodológicas, tienen un alto grado de acuerdo en sus resultados. De un total de 2319 datos analizados, excluyendo los resultados no registrados, 1899 microorganismos fueron identificados de manera consistente por ambos métodos, mientras que 420 mostraron variaciones en la identificación. Esta discrepancia, aunque significativa, no disminuye la utilidad clínica de cada método, sino que resalta la necesidad de una evaluación crítica y posiblemente complementaria de los resultados obtenidos por diferentes técnicas de identificación microbiológica. La alta concordancia subraya la fiabilidad de MALDI TOF MS como una herramienta rápida y precisa, al tiempo que reafirma la validez de los métodos tradicionales como el PHOENIX.
- En cuanto a la velocidad de identificación de microorganismos, la metodología MALDI TOF MS muestra una ventaja significativa sobre el sistema PHOENIX. El análisis de los tiempos revela que PHOENIX tarda entre 18.33 y 24.75 horas en identificar microorganismos, con una mediana de 22 horas, después de obtener

el primer registro de resultados de MALDI TOF MS. Este retraso de aproximadamente 22 horas puede tener implicaciones clínicas importantes, especialmente en el contexto de infecciones agudas y sepsis, donde el tiempo de respuesta es crítico para el manejo y tratamiento del paciente. La rapidez de MALDI TOF MS no solo mejora la eficiencia del laboratorio, sino que también puede traducirse en una intervención terapéutica más temprana y precisa, potencialmente mejorando los resultados clínicos y reduciendo la morbilidad asociada con infecciones graves.

- El análisis de los datos de identificación muestra que *Escherichia coli* es el microorganismo más frecuentemente identificado, representando el 61.89% de todas las identificaciones con 1239 casos. Este hallazgo destaca la prevalencia de *E. coli* como patógeno común en infecciones bacterianas, especialmente en infecciones del tracto urinario. *Staphylococcus aureus*, con 239 identificaciones (13.59%), y *Klebsiella pneumoniae*, con 243 identificaciones (12.14%), son también patógenos prevalentes, lo que subraya la necesidad de una vigilancia continua y estrategias de control de infecciones dirigidas a estos microorganismos. *Staphylococcus epidermidis* y *Enterococcus faecalis*, aunque menos comunes, con 134 (6.69%) y 114 (5.69%) identificaciones respectivamente, también representan patógenos relevantes en el contexto clínico, especialmente en infecciones nosocomiales y en pacientes con dispositivos médicos.
- La mayoría de las muestras analizadas provienen de pacientes de género femenino, con 1678 identificaciones (58.55%), en comparación con 1188

identificaciones en pacientes masculinos (41.45%). Este desequilibrio puede reflejar diferencias en la susceptibilidad a infecciones o en la frecuencia de consultas médicas entre géneros. Además, se observa una alta frecuencia de identificación de microorganismos en pacientes hospitalizados en unidades críticas, lo que resalta la vulnerabilidad de estos pacientes a infecciones nosocomiales. La presencia constante de infecciones en diversas fechas en estas unidades sugiere la necesidad de mejorar las prácticas de control de infecciones y de implementar medidas preventivas más estrictas para proteger a esta población de alto riesgo.

- La detección de mecanismos de resistencia a través de la espectrometría de masas y comparado con la base de datos revela que el único mecanismo de resistencia identificado es KPC, que confiere resistencia a los antibióticos carbapenémicos. *Klebsiella pneumoniae* KPC es el microorganismo más comúnmente asociado con esta resistencia, con 24 de las 26 identificaciones totales. Esto subraya la preocupación creciente por las infecciones causadas por bacterias multirresistentes y la necesidad urgente de estrategias efectivas de vigilancia y control. Las muestras más frecuentemente analizadas incluyen orina, secreciones de herida, sangre, esputos y aspirados traqueales, con *Escherichia coli* predominando en orina, herida y sangre, y *Staphylococcus aureus* en esputo y aspirado traqueal. Este patrón de distribución de microorganismos y su resistencia asociada proporciona una visión crítica para el diseño de intervenciones clínicas y políticas de salud pública destinadas a reducir la propagación de infecciones resistentes.

## 5.2 Recomendaciones

- Dado que MALDI TOF MS ofrece una identificación significativamente más rápida de microorganismos en comparación con PHOENIX, se recomienda integrar esta tecnología en la rutina de diagnóstico microbiológico. Esto permitirá una intervención más temprana y una mejor gestión de las infecciones.
- Es esencial proporcionar capacitación continua al personal de laboratorio para garantizar un uso óptimo y preciso de la tecnología MALDI TOF MS, asegurando así resultados confiables y consistentes.
- Establecer programas de vigilancia que se centren en los patógenos más comunes identificados, como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella pneumoniae*. Estos programas deben incluir el monitoreo de las tasas de infección y la implementación de medidas preventivas.
- Mejorar y reforzar los protocolos de control de infecciones en unidades críticas, donde la frecuencia de infecciones es más alta. Esto incluye medidas estrictas de higiene, uso adecuado de equipos de protección personal y políticas de aislamiento cuando sea necesario.
- Implementar la detección rutinaria de mecanismos de resistencia, como KPC, utilizando tecnologías como MALDI TOF MS. La identificación temprana de bacterias multirresistentes permitirá un tratamiento más efectivo y la prevención de brotes.
- Implementar sistemas eficientes de gestión de datos para registrar, analizar y reportar los resultados de identificación microbiológica de manera precisa y en

tiempo real. Esto facilitará la toma de decisiones clínicas y la investigación epidemiológica.

- Priorizar el análisis de tipos de muestras con alta prevalencia de infecciones, como orina, secreciones de herida, sangre, esputos y aspirados traqueales. Desarrollar protocolos específicos para el manejo y procesamiento rápido de estas muestras.

### Bibliografía Referencias

- Bächli, P. (2022). *Impact of MALDI-TOF MS identification on anaerobic species and genus diversity in routine diagnostics*. Obtenido de Elsevier ScienceDirect: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1075996422000427?via%3Dihub>
- Barth, P. O. (2020). *MALDI-TOF MS for Rapid Identification of Pathogens in Blood Cultures*. Obtenido de Journal of Clinical Microbiology: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1413867022004147#:~:text=MALDI%2DTOF%20MS%20is%20an,compared%20to%20routine%20biochemical%20panels.&text=Its%20use%20in%20rapid%20identification,to%20decide%20on%20appropriate%20therapy>.
- Becker, K. (2024). *MALDI-TOF MS in Microbiological Diagnostics: Future Applications Beyond Identification*. Obtenido de Frontiers in Microbiology: <https://www.frontiersin.org/research-topics/19089/maldi-tof-ms-in-microbiological-diagnostics-future-applications-beyond-identification>
- Belkum, A. v. (2015). *Progress in proteomics for clinical microbiology: MALDI-TOF MS for microbial species identification and more*. Obtenido de Expert review of proteomics: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26472137/>
- Biswas, S. (2013). *Use of MALDI-TOF mass spectrometry for identification of bacteria that are difficult to culture*. Obtenido de Journal of Microbiological Methods: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0167701212003478>
- Bizzini, A. (2010). *Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass*

- spectrometry, a revolution in clinical microbial identification*. Obtenido de Clinical Microbiology and Infection: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20636422/>
- Brown, D. (2023). *MALDI-TOF MS in Environmental Microbiology: Identification and Characterization of Bacterial Species*. Obtenido de Environmental Microbiology: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1870-249X2018000200214#:~:text=The%20molecular%20identification%20and%20classification,clinical%2C%20environmental%20and%20food%20microbiology](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-249X2018000200214#:~:text=The%20molecular%20identification%20and%20classification,clinical%2C%20environmental%20and%20food%20microbiology).
- Burckhardt, I. (2011). *Using Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry To Detect Carbapenem Resistance within 1 to 2.5 Hours*. Obtenido de Journal of clinical microbiology: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3165621/>
- Burckhardt, I. (2018). *Susceptibility Testing of Bacteria Using Maldi-Tof Mass Spectrometry*. Obtenido de Frontiers in Microbiology: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6088204/>
- Calderaro, A. (2024). *MALDI-TOF MS: A Reliable Tool in the Real Life of the Clinical Microbiology Laboratory*. Obtenido de MDPI: <https://www.mdpi.com/2076-2607/12/2/322>
- Carolis, E. D. (2014). *Application of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology*. Obtenido de Journal of infection in developing countries: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25212071/>
- Cherkaoui, A. (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*. Obtenido de Journal of Clinical Microbiology: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20164271/>
- Cho, Y.-T. (2015). *Biomarker Characterization by MALDI-TOF/MS*. Obtenido de Advances in clinical chemistry: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25934363/>
- Christner, M. (2014). *Rapid MALDI-TOF Mass Spectrometry Strain Typing during a Large Outbreak of Shiga-Toxigenic Escherichia coli*. Obtenido de Plos One: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0101924>
- Croxatto, A. (2012). *Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology*. Obtenido de FEMS Microbiology Reviews:

- <https://academic.oup.com/femsre/article/36/2/380/565595?login=false>
- Darie-Ion, L. (2022). *Applications of MALDI-MS/MS-Based Proteomics in Biomedical Research*. Obtenido de MDPI Molecules: <https://www.mdpi.com/1420-3049/27/19/6196>
- Davey, C. (2015). *MALDI-TOF mass spectrometry: applications for molecular epidemiology*. Obtenido de Future Microbiology: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9777230/>
- Emonet, C. (2010). *Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for rapid identification of  $\beta$ -hemolytic streptococci*. Obtenido de Journal of Clinical Microbiology: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3147758/>
- Florio, W. (2023). *A New Culture-Based Method for Rapid Identification of Microorganisms in Polymicrobial Blood Cultures by MALDI-TOF MS*. Obtenido de BMC Microbiology: <https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12866-019-1641-1>
- Gunduz, C. P. (2022). *Identification of yeasts in fermented foods and beverages using MALDI-TOF MS*. Obtenido de Oxford Academy: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36367538/>
- Guo, L. (2019). *Comparative Analysis of MALDI-TOF MS Systems for the Identification of Clinical Pathogens*. Obtenido de Journal of Medical Microbiology: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4015025/>
- Hammond, W. (2014). *Rapid identification of bacteria and fungi by MALDI-TOF mass spectrometry*. Obtenido de Journal of Clinical Microbiology: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9727634/>
- Ho, P. L. (2018). *MALDI-TOF MS for Identification of Antimicrobial Resistance Markers*. Obtenido de Journal of Antimicrobial Chemotherapy.: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6046294/>
- Jang, K.-S. (2018). *Rapid and robust MALDI-TOF MS techniques for microbial identification: a brief overview of their diverse applications*. Obtenido de Journal of Microbiology, Seoul Korea: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29492868/>
- Karas, M. (1985). *Laser desorption ionization of proteins with molecular masses*

- exceeding 10,000 daltons. Obtenido de Analytical Chemistry: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3239801/>
- Krueger, F. (2015). *MALDI-TOF mass spectrometry in routine clinical microbiology: past, present and future*. Obtenido de European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30987712/>
- Kumar, A. S. (2024). *MALDI-TOF Mass Spectrometry: An Emerging Technology for Microbial Identification and Diagnosis*. Obtenido de Frontiers in Microbiology: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4525378/>
- Kumar, K. N. (2021). *MALDI-TOF MS Rapid Identification for Food Microbiology*. Obtenido de Food Microbiology: <https://www.rapidmicrobiology.com/test-method/maldi-tof-ms-rapid-identification-for-food-microbiology#:~:text=Manageable%20workloads%20and%20little%20consumable,foodborne%20pathogens%2C%20yeasts%20and%20molds>.
- Lau, A. F. (2019). *Evaluation of MALDI-TOF MS for Routine Identification of Yeast Species in a Clinical Laboratory*. Obtenido de Journal of Clinical Laboratory Analysis: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8220872/>
- L'Ollivier, C. (2013). *A MALDI-TOF MS procedure for clinical dermatophyte species identification in the routine laboratory*. Obtenido de Medical micology: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23611419/>
- Lopez, A. G. (2023). *Implementation of MALDI-TOF MS for Routine Identification of Bacterial Isolates in Clinical Labs*. Obtenido de Clinical Microbiology Reviews: <https://doi.org/10.1128/CMR.00213-22>
- March, G. A., & Eiros, J. M. (2012). *IMPACTO DE LA METODOLOGÍA MALDI-TOF EN LA IDENTIFICACIÓN CLÍNICA DE AGENTES INFECCIOSOS*. Obtenido de Revista electrónica de biomedicina: <https://biomed.uninet.edu/2012/n1/march.html>
- Moon, J. S. (2022). *Advances in MALDI-TOF MS for Microbial Identification and Typing*. Obtenido de Analytical Chemistry: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9699604/>
- Moreno, L. Z. (2017). *Identification through MALDI-TOF mass spectrometry and antimicrobial susceptibility profiling of bacterial pathogens isolated from sow*

- urinary tract infection*. Obtenido de *Veterinary Quarterly*:  
<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/01652176.2017.1397302>
- Murugaiyan, J. (2017). *MALDI-TOF MS Profiling-Advances in Species Identification of Pests, Parasites, and Vectors*. Obtenido de *Frontiers Microbiology*:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5430024/>
- Patel, R. (2022). *MALDI-TOF MS for the Diagnosis of Infectious Diseases*. Obtenido de *Clinical Chemistry*: <https://academic.oup.com/clinchem/article/61/1/100/5611480>
- Rychert, J. (2021). *Benefits and Limitations of MALDI-TOF Mass Spectrometry for the Identification of Microorganisms*. Obtenido de *Journal of Clinical Microbiology*:  
<https://www.infectiologyjournal.com/articles/benefits-and-limitations-of-malдитof-mass-spectrometry-for-the-identification-of-microorganisms.html>
- Schubert, S., & Kostrzewa, M. (2017). *MALDI-TOF MS in the Microbiology Laboratory: Current Trends*. Obtenido de *Current Issues in Molecular Biology*:  
<https://www.caister.com/cimb/abstracts/v23/17.html>
- Seng, P. (2009). *Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry*. Obtenido de *Clinical Infectious Diseases*:  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19583519/>
- Seng, P. (2009). *Ongoing Revolution in Bacteriology: Routine Identification of Bacteria by Matrix-assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry*. Obtenido de *Clinical Infectious Diseases*:  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19583519/>
- Singhal, N. (2016). *MALDI-TOF MS in clinical parasitology: applications, constraints and prospects*. Obtenido de *Parasitology journal*:  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27387025/>
- Sparbier, K. (2012). *Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry-based functional assay for rapid detection of resistance against  $\beta$ -lactam antibiotics*. Obtenido de *Journal of clinical microbiology*:  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22205812/>
- Tsuchida, S. (2020). *Current Status of Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) in Clinical Diagnostic Microbiology*.

- Obtenido de MDPI Molecules: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33080897/>
- Vaishampayan, P. (2023). *MALDI-TOF MS Application in Microbial Ecology Studies*. Obtenido de *Frontiers in Microbiology*: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2019.02954/full>
- Venezia, B. (2014). *MALDI-TOF mass spectrometry: current applications and potential developments in clinical microbiology*. Obtenido de *Clinical Microbiology and Infection*: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2529993X21000563>
- Wang, Y. F. (2020). *Using MALDI-TOF MS for Rapid Identification of Pathogens in Respiratory Samples*. Obtenido de *Clinical Microbiology and Infection*: <https://jtd.amegroups.org/article/view/2314/html#:~:text=MALDI%2DTOF%2DMS%20has%20shown,bacteria%20at%20the%20species%20level.>
- Webster, J. (2012). *Protein identification by MALDI-TOF mass spectrometry*. Obtenido de Springer Link: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21964792/>
- Wieser, A. (2011). *MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics—Identification of microorganisms and beyond (mini review)*. Obtenido de *Applied Microbiology and Biotechnology*: [https://www.researchgate.net/publication/51924426\\_MALDI-TOF\\_MS\\_in\\_microbiological\\_diagnostics-Identification\\_of\\_microorganisms\\_and\\_beyond\\_mini\\_review](https://www.researchgate.net/publication/51924426_MALDI-TOF_MS_in_microbiological_diagnostics-Identification_of_microorganisms_and_beyond_mini_review)
- Zambonin, C. (2022). *MALDI-TOF/MS Analysis of Non-Invasive Human Urine and Saliva Samples for the Identification of New Cancer Biomarkers*. Obtenido de MDPI Molecules: <https://www.mdpi.com/1420-3049/27/6/1925>

# UNEMI

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

*¡Evolución académica!*

@UNEMIEcuador

