



ENFERMEDADES INFECCIOSAS
(INEI)



Ministerio
de Salud
República Argentina

INSTITUTO NACIONAL DE

Integración de MALDI-TOF MS en Laboratorios de Microbiología Clínica: Lineamientos y Consideraciones

1° Edición

Autores:

Prieto Mónica & Rocca Florencia



INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS
(INEI)



Cita sugerida: Prieto M; Rocca F. Integración de MALDI-TOF MS en Laboratorios de Microbiología Clínica: Lineamientos y Consideraciones. Buenos Aires: ANLIS Dr.C.G. Malbrán, 2025. Disponible en: <http://sgc.anlis.gob.ar/handle/123456789/2632>

“Este recurso es el resultado del financiamiento otorgado por el Estado Nacional, por lo tanto queda sujeto al cumplimiento de la Ley N° 26.899 y la política de gestión del conocimiento de la ANLIS”.



[Este obra está bajo una Licencia Creative Commons Attribution 4.0 International \(CC BY 4.0\)](#)



INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS
(INEI)



INTEGRACIÓN EFECTIVA DE MALDI-TOF MS EN LABORATORIOS DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA:

Lineamientos y Consideraciones

**Bs.As., Argentina Enero
2025**



TABLA DE CONTENIDO O ÍNDICE

Integración de MALDI-TOF MS en Laboratorios de Microbiología Clínica: Lineamientos y Consideraciones 1° Edición

1

<u>TABLA DE CONTENIDO O ÍNDICE</u>	4
<u>1. Alcance</u>	8
<u>2. Introducción</u>	8
<u>2.1. Fundamento de MALDI-TOF MS</u>	8
<u>2.2. Ventajas y limitaciones de la tecnología</u>	9
<u>2.3. Impacto en el laboratorio de microbiología</u>	9
<u>3. Integración de MALDI-TOF MS al Laboratorio de Microbiología Clínica</u>	10
<u>3.1. Planificación e infraestructura</u>	10
<u>3.1.1. Evaluación de costos y retorno de inversión:</u>	10
<u>3.1.2. Requisitos de espacio y ambiente:</u>	10
<u>3.1.3. Consideraciones de instalación:</u>	10
<u>3.1.4. Conectividad:</u>	10
<u>3.1.5. Acceso a Internet:</u>	11
<u>3.2. Aspectos Técnicos</u>	11
<u>3.2.1. Selección del equipo:</u>	11
<u>3.2.2. Especificaciones técnicas:</u>	11
<u>3.2.3. Mantenimiento del Sistema:</u>	11
<u>3.2.4. Consumibles necesarios:</u>	11
<u>3.3. Requerimientos de personal</u>	11
<u>4. Procedimientos Operativos</u>	12
<u>4.1. Preparación de muestras</u>	12
<u>4.2. Condiciones de cultivo e incubación</u>	12
<u>4.3. Métodos de siembra /extracción</u>	13
<u>4.3.1. Método de extendido directo:</u>	13



4.3.2.	<u>Método de extracción etanólica:</u>	13
4.4.	<u>Análisis directo de hemocultivos positivos</u>	14
4.5.	<u>Calibración del Equipo</u>	14
4.6.	<u>Control de Calidad</u>	14
4.7.	<u>Gestión de Datos y Resultados</u>	15
5.	<u>Consideraciones sobre Bioseguridad</u>	15
6.	<u>Interpretación y comunicación de resultados</u>	16
6.1.	<u>Bases de datos</u>	17
6.1.1.	<u>Microorganismos declarados</u>	17
6.1.2.	<u>Microorganismos desconocidos o no declarados</u>	18
6.1.3.	<u>Identificaciones divididas</u>	18
6.1.4.	<u>Bases de datos extendidas</u>	18
6.1.5.	<u>Actualización de bases de datos comerciales</u>	18
6.2.	<u>Consideraciones para la comunicación de resultados</u>	19
6.3.	<u>Consideraciones sobre la taxonomía</u>	19
7.	<u>Validación y verificación</u>	20
7.1.	<u>Tipos de estudios</u>	20
7.1.1.	<u>Estudio de Verificación Exhaustivo</u>	20
7.1.2.	<u>Estudio de Verificación Limitado</u>	21
7.1.3.	<u>Cambios que No Requieren Verificación</u>	21
7.2.	<u>Criterios de Aceptación</u>	21
7.3.	<u>Análisis de los Resultados de la Verificación</u>	22
7.4.	<u>Documentación Requerida</u>	22
	<u>Protocolo de Verificación</u>	22
	<u>Registros de Pruebas</u>	22
	<u>Informe de Verificación:</u>	23
7.5.	<u>Evaluación de Desempeño</u>	23
8.	<u>Capacitación y evaluación de competencias</u>	23
8.1.	<u>Programa de Entrenamiento Inicial</u>	23
8.1.1.	<u>Conocimiento Teórico</u>	23
8.1.2.	<u>Selección y Manejo de Muestras</u>	23
8.1.3.	<u>Preparación de muestras para análisis</u>	23
8.1.4.	<u>Análisis de Datos e Interpretación de Resultados</u>	24



8.1.5. Pruebas Complementarias y Resolución de Problemas	24
8.2. Evaluación de competencias	24
8.3. Educación continua	25
8.4. Documentación de la Capacitación	25
9. Aseguramiento de la Calidad en MALDI-TOF MS	25
9.1. Controles Internos	25
9.2. Controles Externos	26
9.3. Indicadores de Calidad	27
9.4. Documentación y Registros	27
10. Aspectos Regulatorios	28
11. Integración de MALDI-TOF MS con los sistemas de pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos	28
13. Preguntas frecuentes	29
REFERENCIAS	30
Sitios web de interés	31
Anexo I: Géneros y especies bacterianos reclamados ante FDA	32
Anexo II	43
Definiciones	43
IVD (<i>In Vitro Diagnostic</i>)	43
RUO (<i>Research Use Only</i>)	43
Marcado CE (<i>Conformité Européenne</i>)	43
Autorización FDA 510(k)	43
Pruebas de diagnóstico in house	44
Pruebas de diagnóstico no autorizadas	44
Pruebas diagnósticas comerciales	44
Verificación según ISO 15189:2012	45
Validación según ISO 15189:2012	45
Evaluación	45
Anexo III	46
Aislados clínicos para verificación de identificación bacteriana según CLSI M58, 2017.	46
Anexo IV	49
Genes de ARN ribosómico y su importancia en la taxonomía procariota	49
Secuenciación del gen 16S rADN y su aplicación en la identificación bacteriana	49



INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS
(INEI)



Marcadores genéticos alternativos para la identificación taxonómica	49
Limitaciones de las bases de datos de secuencias públicas	50
Resolución del gen 16S rRNA para la Identificación de Diferentes Grupos Bacterianos	50



1. Alcance

Esta guía establece lineamientos para integrar la tecnología MALDI-TOF MS (*Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time Of Flight Mass Spectrometry*) en laboratorios de microbiología diagnóstica, con un enfoque en los procesos de verificación, validación y aplicación práctica, garantizando la confiabilidad y adecuación de los métodos implementados a sus objetivos. Basada en el documento de consenso del CLSI M58, 1ª ed. (2017) y alineada con estándares internacionales como ISO 15189, se orienta a asegurar un desempeño óptimo de los procedimientos bajo las condiciones específicas de cada laboratorio. Además, incorpora la experiencia de la Red Argentina de Espectrometría de Masas aplicada a la Microbiología Clínica (ReNaEM), que ha contribuido con su conocimiento práctico en la implementación de MALDI-TOF MS en el contexto local.

La guía aborda aspectos esenciales como la selección y preparación de muestras, la interpretación de resultados y su comunicación, y la implementación de un sistema integral de calidad que contemple la formación del personal, el control de calidad y la gestión eficiente de la información. Está dirigida a laboratorios clínicos, excluyendo aplicaciones en investigación y el análisis directo de muestras clínicas sin cultivo previo.

2. Introducción

1. Fundamento de MALDI-TOF MS

MALDI-TOF MS es una técnica de espectrometría de masa que revolucionó la identificación microbiana en laboratorios clínicos. Su fundamento se basa en la ionización suave de proteínas, principalmente ribosomales, mediante una matriz orgánica, generalmente ácido α -ciano-4-hidroxicinámico (HCCA) que, al ser impactada por un láser de nitrógeno, provoca la desorción e ionización de las moléculas de la muestra. Los iones generados son acelerados en un campo eléctrico y viajan a través de un tubo de vacío, donde son separados según su relación masa/carga. El tiempo que tardan en llegar al detector (tiempo de vuelo) permite determinar su masa molecular, generando un espectro característico o "huella peptídica" que se compara con una base de datos de perfiles proteicos de referencia para identificar el microorganismo.

Actualmente, las dos principales plataformas comerciales de espectrometría de masas MALDI-TOF son Bruker MALDI Biotyper y bioMérieux VITEK MS. Ambas incluyen el hardware del espectrómetro, software con licencia, bases de datos espectrales de referencia y métodos sencillos para la preparación de muestras.

En 2013, el MALDI Biotyper obtuvo la autorización de la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA, por sus siglas en inglés), para identificar bacterias Gram negativas cultivadas a partir de muestras humanas. Esta autorización se amplió posteriormente para incluir bibliotecas de Gram positivos aeróbicos, Gram negativos exigentes, *Enterobacteriaceae*, bacterias anaerobias y levaduras. En 2016, el dispositivo recibió una actualización para incorporar microorganismos adicionales, como hongos, micobacterias y *Nocardia* (FDA K163536¹).

¹ <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfpmn/pmn.cfm?ID=K163536>



Por su parte, el sistema VITEK MS cuenta con el marcado CE (Conformidad Europea) y la autorización de la FDA para identificar bacterias y hongos. Su base de datos, más extensa, abarca micobacterias, *Nocardia* y hongos, como se describe en FDA K212461².

La identificación microbiológica precisa, que esta tecnología ofrece, es fundamental en el diagnóstico y tratamiento de infecciones. Sin embargo, es crucial que los profesionales de la salud comprendan las capacidades y limitaciones de esta herramienta, así como el impacto que la interpretación de sus resultados puede tener en la toma de decisiones clínicas.

2. Ventajas y limitaciones de la tecnología

Entre las ventajas de MALDI-TOF MS se incluyen su rapidez, la capacidad para identificar múltiples microorganismos simultáneamente y su alta precisión, lo que reduce significativamente el tiempo de diagnóstico en comparación con métodos tradicionales. Las principales limitaciones del MALDI-TOF MS incluyen su incapacidad para identificar eficazmente cultivos mixtos o refrigerados y diferenciar entre especies muy cercanas filogenéticamente³. La técnica requiere cultivos puros con biomasa suficiente (10^5 - 10^7 UFC) y presenta dificultades con bacterias mucoides y aquellos microorganismos con paredes celulares complejas. Económicamente, implica una inversión inicial alta en equipamiento y costos continuos en mantenimiento. Además, requiere condiciones ambientales controladas y está sujeta a la calidad y actualización de las bases de datos comerciales, lo que puede afectar la precisión de las identificaciones.

3. Impacto en el laboratorio de microbiología

La integración de MALDI-TOF MS en el laboratorio de microbiología diagnóstica no solo mejora la eficiencia y la precisión en la identificación de patógenos, sino que también optimiza el flujo de trabajo y permite una respuesta más rápida a las infecciones. Esto puede traducirse en mejores resultados clínicos y un uso más eficiente de los recursos del laboratorio, contribuyendo a un manejo efectivo de las infecciones en los pacientes. Además, si se incorpora MALDI-TOF MS a un Programa de Optimización de Antibióticos (PROA), el impacto puede ser aún más significativo. La capacidad de identificar rápidamente microorganismos y sus perfiles de resistencia permite a los clínicos tomar decisiones informadas sobre el tratamiento antibiótico adecuado desde el inicio de la terapia. Esto no solo mejora la atención al paciente, sino que también ayuda a reducir la prescripción inadecuada de antibióticos, disminuyendo la resistencia bacteriana y promoviendo el uso responsable de estos medicamentos.

2. Integración de MALDI-TOF MS al Laboratorio de Microbiología Clínica

La integración del sistema MALDI-TOF MS en un laboratorio de microbiología clínica representa un avance tecnológico significativo con un gran impacto en las prácticas de identificación microbiana. Para asegurar una implementación exitosa y un uso efectivo de esta poderosa herramienta, es fundamental considerar una serie de factores clave:

² <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfpmn/pmn.cfm?id=K212461>

³ Los fabricantes declaran las limitaciones para identificación de especies bacterianas filogenéticamente relacionadas en los documentos de aprobación 510K por FDA.



2.1. Planificación e infraestructura

2.1.1. Evaluación de costos y retorno de inversión:

El costo de adquisición de un sistema MALDI-TOF varía entre 150,000 a 300,000 USD, dependiendo del proveedor. Además, se deben considerar los costos anuales de mantenimiento (10-15% del valor del equipo) y consumibles (placas, matrices, etc.). El retorno de inversión se fundamenta en el aumento de eficiencia y reducción de costos directos operativos del laboratorio, al mejorar los tiempos de identificación microbiana. También se deben considerar la reducción de costos indirectos como el impacto del diagnóstico rápido en las estancias hospitalarias y en el uso más adecuado de antimicrobianos.

2.1.2. Requisitos de espacio y ambiente:

El espacio necesario para instalar un sistema MALDI-TOF es relativamente pequeño, generalmente de 2-4 m². El área debe estar climatizada y mantener una temperatura y humedad controlada, exenta de variaciones extremas (aproximadamente 20-25°C y 30-60% de humedad relativa). Se requiere una superficie de trabajo estable y libre de vibraciones para colocar el equipo. Es preferible que el área tenga buena iluminación y ventilación adecuada y sea un espacio libre de polvo.

2.1.3. Consideraciones de instalación:

El equipo MALDI-TOF debe ubicarse en un área de acceso restringido y segura, preferiblemente cerca del área de preparación de muestras. Se debe contar con tomas eléctricas cercanas y suficientes para alimentar el equipo y accesorios. En algunos casos, puede requerirse una estación de trabajo con ordenador dedicado para el control y análisis de datos. La instalación del equipo generalmente es realizada por el proveedor, quien dará entrenamiento al personal.

2.1.4. Conectividad:

La integración de MALDI-TOF MS con el sistema de información del laboratorio y otros sistemas, como los de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana, agiliza el flujo de trabajo y la gestión de datos. Es crucial evaluar la compatibilidad del instrumento con los sistemas existentes y las opciones de conectividad.

2.1.5. Acceso a Internet:

Algunos sistemas MALDI-TOF MS requieren acceso a Internet para actualizaciones de software, acceso a bases de datos y soporte técnico.

2.2. Aspectos Técnicos

2.2.1. Selección del equipo:

La selección del equipo MALDI-TOF MS adecuado debe considerar diversos factores, como el volumen de muestras a procesar, el tipo de aplicaciones requeridas (identificación microbiana, desarrollos en investigación, etc.), la integración con el flujo de trabajo del laboratorio, la disponibilidad de personal y el presupuesto disponible. Es importante evaluar las propuestas de diferentes proveedores y comparar las características técnicas, funcionalidades y servicios ofrecidos.

2.2.2. Especificaciones técnicas:

Los sistemas MALDI-TOF MS deben cumplir con especificaciones técnicas clave, como: Rango de masas: generalmente entre 2000 a 20000 Daltons para identificación microbiana; aunque los mismos equipos pueden trabajar en rangos extendidos cuando el objetivo es la investigación, resolución de masa para permitir



una identificación precisa de especies microbianas; capacidad de detectar bajas concentraciones de analitos que es importante para identificación de microorganismos fastidiosos o de lento desarrollo, velocidad de análisis que permita procesamiento de muestras en tiempos cortos (generalmente menos de 1 minuto por muestra); interfaz de usuario amigable y software de análisis de datos intuitivo. También, es importante conocer cuáles son las bases de datos de espectros de referencia. Es importante evaluar la cobertura y actualización periódica de estas bases de datos, así como la posibilidad de expandirlas o personalizarlas según las necesidades del laboratorio.

2.2.3. Mantenimiento del Sistema:

Los equipos MALDI-TOF MS requieren un mantenimiento preventivo regular, que generalmente incluye: Calibración y verificación del desempeño del equipo, limpieza y mantenimiento de las partes críticas, reemplazo de piezas falladas, actualización de software y bases de datos, contrato de mantenimiento con el proveedor.

2.2.4. Consumibles necesarios:

Los principales consumibles requeridos para el funcionamiento del MALDI-TOF son: Placas o tarjetas con pocillos para las muestras, matrices de cristalización, solventes y reactivos de preparación de muestras, controles y estándares de calibración. La gestión adecuada de estos insumos, en términos de inventario, almacenamiento y uso, es fundamental para el correcto funcionamiento del sistema.

2.3. Requerimientos de personal

Se requiere personal técnico calificado para la operación y mantenimiento del equipo MALDI-TOF MS. Es necesario capacitar al personal del laboratorio en el uso adecuado del sistema, interpretación y comunicación de resultados y control de calidad (Ver sesión 8).

3. Procedimientos Operativos

3.1. Preparación de muestras

La preparación de muestras es una etapa crítica para obtener resultados confiables en el MALDI-TOF. Es fundamental trabajar con cultivos puros, sin contaminación de otros microorganismos. Esto permite obtener el espectro de masas característico del microorganismo de interés, esencial para su comparación con la base de datos de referencia y una identificación precisa. Se debe utilizar una sola colonia bien aislada siempre que sea posible y evitar tocar el medio de cultivo. Si las colonias son pequeñas o difíciles de recoger, se puede usar más de una colonia del mismo morfotipo. Cuando se requieren pruebas de susceptibilidad antimicrobiana adicionales, es necesario asegurarse de tener material suficiente para ambos análisis. Si no se dispone de material adecuado en el medio primario, se debe realizar un subcultivo de la colonia antes del análisis. Si las colonias de diferente morfología están muy próximas, puede ser recomendable subcultivar las colonias de interés realizando aislamiento para evitar contaminación cruzada.

3.2. Condiciones de cultivo e incubación

Se debe garantizar un crecimiento microbiano suficiente para una identificación precisa. Sin embargo, no hay recomendaciones específicas sobre la duración de la incubación antes del análisis MALDI-TOF MS. Los fabricantes recomiendan una duración de incubación de **18 a 24 horas** para la mayoría de los análisis. Para la



mayoría de las especies de relevancia clínica, cuando se cultivan de acuerdo con los procedimientos estándar para su crecimiento óptimo y se almacenan a temperatura ambiente o en atmósfera controlada, las identificaciones no se ven significativamente afectadas si el almacenamiento no excede las 72 horas. Sin embargo, después de este período, la calidad y la intensidad de los picos en el espectro comienzan a disminuir. Para evitar obtener espectros de mala calidad, siempre es recomendable utilizar aislados recién cultivados. Asimismo, los aislados almacenados a temperaturas de refrigeración no deben ser analizados directamente; en su lugar, deben ser subcultivados para promover un crecimiento activo antes del análisis.

Se recomienda **utilizar medios sólidos**, ya que permiten evaluar visualmente la pureza del cultivo y seleccionar colonias individuales. Los microorganismos cultivados en medios líquidos requieren manipulación adicional, como centrifugación y lavado, antes del análisis. Los medios selectivos pueden afectar negativamente la calidad espectral, lo que puede dar lugar a fallos o identificaciones de menor confianza, aunque no producen identificaciones erróneas. En estos casos, se puede mejorar la calidad espectral realizando un paso de extracción en tubo o subcultivando a un medio no selectivo antes del análisis.

Cada laboratorio debe consultar las recomendaciones del fabricante de su sistema MALDI-TOF MS sobre los medios de cultivo que han demostrado ser compatibles.

3.3. Métodos de siembra /extracción

3.3.1. Método de extendido directo:

En la cabina de seguridad biológica y empleando guantes de látex libres de talco, tomar con un palillo, una sola colonia aislada y realizar un extendido lo más fino posible en un pocillo. Realizar el segundo spot sin volver a tocar la colonia. Una vez secos los pocillos sembrados, cubrir cada pocillo con 1 µl de matriz HCCA. Dejar secar a temperatura ambiente 5-10 minutos. Introducir la placa en el equipo y proceder a la identificación.

La calidad del spot es esencial. Un spot con exceso de biomasa no producirá espectros de buena calidad. Se sugiere el entrenamiento previo del personal para lograr spots con cantidad de biomasa óptima.

Una vez cubiertas las muestras con matriz, la lectura puede ser realizada hasta 3 o 4 horas después de la siembra. En ese caso, guardar la placa en su soporte y en ambiente fresco y seco, evitando variaciones de temperatura y humedad. Si es posible dejar esa placa dentro del equipo en estado de vacío, la corrida puede realizarse hasta 10 o 12 horas luego de la siembra.

Nota: En caso de no lograr una identificación confiable por el método directo, se sugiere realizar el procedimiento agregando 1 µl de ácido fórmico (AF) 70% al segundo pocillo de cada muestra y luego cubrir con la matriz. De no obtenerse los resultados deseados, ensayar la extracción etanólica en tubo.

El orden habitual es transferir primero el aislado al pocillo y luego agregar la matriz o agregar un microlitro de solución AF 70% y luego la matriz. Sin embargo, este orden puede revertirse si se utiliza una gota de matriz o solución AF 70% pre aplicada al pocillo y suspender el aislado en esa gota para facilitar la transferencia, especialmente en aislados difíciles de manejar que no se adhieren a la superficie de la placa o son muy mucoides. Otra alternativa es suspender el aislado en un volumen apropiado de matriz dentro de un tubo pequeño y estéril, y luego pipetear la mezcla en el pocillo de la placa.

3.3.2. Método de extracción etanólica:

Para realizar el procedimiento, agregar 300 µl de agua de calidad biología molecular en un tubo Eppendorf y transferir varias colonias aisladas al tubo hasta lograr una turbidez cercana al 3 de McFarland. Mezclar



vigorosamente en vortex y añadir 900 µl de etanol (calidad biología molecular). Si es necesario detener el proceso, las muestras pueden refrigerarse en este paso, aunque no se recomienda. Posteriormente, mezclar nuevamente en vortex y centrifugar a 13,000 rpm durante 2 minutos. Descartar el etanol del sobrenadante invirtiendo el tubo y centrifugar nuevamente a 13,000 rpm por 2 minutos. Remover el exceso de líquido con pipeta y dejar secar a temperatura ambiente hasta evaporación total. Agregar 50 µl de ácido fórmico AF 70% (reducir a 10 µl si el pellet es pequeño) y mezclar vigorosamente en vortex. A continuación, añadir 50 µl de acetonitrilo (AN), asegurándose de que los volúmenes de AF y AN sean idénticos y mezclar nuevamente. Centrifugar a 13,000 rpm por 2 minutos, luego pipetear 1 µl del sobrenadante en un pocillo de la placa sin tocar el pellet, y dejar secar. Cubrir con 1 µl de matriz y dejar secar a temperatura ambiente entre 5 y 10 minutos antes de introducir la placa en el equipo para proceder con la identificación. Nota: Se recomienda realizar todo el procedimiento en el día y emplear reactivos químicos de alta pureza para garantizar la calidad de la extracción y del espectro.

3.4. Análisis directo de hemocultivos positivos

Cuando un hemocultivo se positiviza, el método tradicional implica tinción de Gram, subcultivo y posterior identificación por MALDI-TOF MS. La identificación directa por MALDI-TOF MS, realizada inmediatamente después de que el hemocultivo se positiviza, agiliza significativamente el proceso diagnóstico. Este método reduce en al menos un día el tiempo necesario para identificar el microorganismo causante de la infección, lo que permite iniciar la terapia antibiótica adecuada de manera más oportuna. Sin embargo, es fundamental contar con **equipos de extracción específicos y aprobados** para este tipo de análisis. En caso contrario, **el laboratorio debe validar** el procedimiento de manera interna.

Si bien las estrategias de identificación directa ofrecen resultados preliminares en corto tiempo, es fundamental continuar con el flujo de trabajo convencional para confirmar los hallazgos. Una limitación significativa de MALDI-TOF MS es su incapacidad para identificar múltiples microorganismos en cultivos mixtos. En particular, los hemocultivos con morfologías Gram variables sólo deben procesarse de manera convencional. Incluso cuando los microorganismos presentan una morfología Gram similar, el subcultivo en medios sólidos es esencial para revelar la presencia de múltiples especies. El análisis de cultivos mixtos por MALDI-TOF MS puede generar resultados inciertos, como la ausencia de identificación, identificaciones parciales o la identificación predominante de una sola especie

3.5. Calibración del Equipo

La calibración del equipo es un proceso fundamental que asegura la precisión y exactitud de las mediciones realizadas en un laboratorio. Implica el ajuste de los parámetros del equipo para que los resultados obtenidos sean reproducibles y confiables. Este proceso generalmente incluye la utilización de estándares de referencia provistos por cada fabricante que permiten verificar y ajustar la respuesta del espectrómetro de masas. Es recomendable realizar la calibración antes de cada sesión de análisis, para garantizar la validez de los resultados o al menos una vez al día si el flujo de trabajo es intenso.

3.6. Control de Calidad

Para asegurar la calidad de los resultados MALDI-TOF, se deben implementar controles de calidad, como: Uso de cepas de control conocidas para evaluación de identificación, verificación de la reproducibilidad de los espectros o participación en programas de evaluación externa de calidad. La formación continua del personal



también es crucial para asegurar que todos los procedimientos se sigan adecuadamente y que el equipo se mantenga en condiciones óptimas.

3.7. Gestión de Datos y Resultados

La gestión de datos y resultados es un aspecto clave en el uso del MALDITOF, ya que implica la recopilación, almacenamiento organizado de los espectros y resultados de identificación. Se sugiere establecer protocolos de seguridad para proteger la información sensible y garantizar la integridad de los datos. La interpretación de los resultados debe ser llevada a cabo por personal capacitado. El respaldo y seguridad de la información generada y su trazabilidad son esenciales para la validez de los estudios y la confianza en las conclusiones obtenidas.

4. Consideraciones sobre Bioseguridad

La implementación de MALDI-TOF MS en el laboratorio de microbiología implica importantes consideraciones de bioseguridad. Es fundamental minimizar los riesgos relacionados con la exposición a sustancias químicas y agentes infecciosos en todas las etapas del proceso, desde la preparación de la muestra hasta el análisis y la eliminación de residuos.

Los **riesgos químicos** incluyen el contacto directo con reactivos y la exposición a vapores químicos. La preparación de muestras requiere el uso de reactivos como matrices (por ejemplo, HCCA) y solventes orgánicos (acetonitrilo y etanol), que pueden ser irritantes o corrosivos. Además, durante procedimientos como la preparación de soluciones madre, la limpieza de portaobjetos o placas objetivo y los métodos de extracción, se generan vapores potencialmente nocivos.

En cuanto a los **riesgos biológicos**, la manipulación de microorganismos es una fuente importante de preocupación. Tanto las muestras primarias como los cultivos analizados con MALDI-TOF MS presentan un riesgo de exposición a agentes infecciosos. Los portaobjetos o placas, incluso después de la aplicación de la matriz, deben considerarse biopeligrosos, ya que pueden contener microorganismos viables.

Para garantizar la seguridad, es crucial adoptar medidas adecuadas:

- En la **higiene química**, se recomienda utilizar guantes y ropa protectora al manipular reactivos. Los productos químicos peligrosos deben ser manejados en una campana de gases o en una cabina de seguridad biológica (CSB) Clase II tipo B1 o B2. Asimismo, es esencial consultar las hojas de datos de seguridad y seguir el plan institucional para el descarte de solventes.
- En las **prácticas de bioseguridad**, es vital manipular cultivos potencialmente peligrosos en una CSB hasta su inactivación. Aunque la matriz CHCA y el ácido fórmico al 70% tienen propiedades bactericidas, se debe tener precaución con la biomasa espesa o la aplicación incompleta de la matriz. Para microorganismos de mayor riesgo, como micobacterias, hongos filamentosos, hongos dimórficos o agentes de alto riesgo como *Brucella*, *Bacillus anthracis*, *Burkholderia mallei/pseudomallei*, se recomienda un método de extracción con inactivación.

En situaciones de análisis inadvertido de agentes de alto riesgo, es necesario consultar con las autoridades sanitarias antes del análisis. Si se identifica un agente de alto riesgo, se deben seguir medidas estrictas de bioseguridad, incluyendo la notificación a la dirección, la profilaxis posterior a la exposición y la esterilización



de cultivos y materiales contaminados. Además, es crucial conocer los agentes de alto riesgo incluidos y excluidos en la base de datos espectrales.

La **evaluación de riesgos** es un componente esencial. Esto implica identificar peligros potenciales en cada etapa del proceso y desarrollar protocolos para mitigar los riesgos químicos y biológicos, protegiendo tanto al personal del laboratorio como al personal externo.

La **bioseguridad** en el uso de MALDI-TOF MS requiere un enfoque proactivo y multifacético para proteger al personal, garantizar la integridad de los resultados y cumplir con las regulaciones vigentes. La capacitación, la evaluación continua de riesgos, la implementación de protocolos de seguridad y las medidas de control de calidad son fundamentales para mantener un entorno de trabajo seguro y eficiente.

6. Interpretación y comunicación de resultados

Cada plataforma MALDI-TOF-MS ofrece un sistema de expresión de resultados, con valores numéricos (score) o porcentaje de confianza. Es importante que los usuarios **comprendan el significado de estos valores de confianza**, ya que pueden variar según el fabricante. Generalmente, se establecen rangos de valores para indicar si la identificación es confiable a nivel de especie, género o si es poco fiable. Si no se proporciona un valor numérico, el sistema evalúa internamente la confianza y solo reporta una identificación cuando esta supera un umbral predefinido.

Los resultados obtenidos con MALDI-TOF MS pueden presentar diferentes escenarios:

- **Identificación clara:** Se obtiene una única identificación con un alto grado de confianza.
- **Identificación ambigua:** Se obtienen varias identificaciones con niveles de confianza similares.
- **Sin identificación:** No se encuentra una coincidencia en la base de datos.

La interpretación de resultados en la identificación microbiana mediante MALDI-TOF MS es un proceso crucial que requiere una comprensión profunda de los principios del método y la capacidad de correlacionar los resultados con otras observaciones fenotípicas. A continuación, se presentan algunos puntos clave a considerar:

Concordancia con la morfología: La identificación obtenida a través de MALDI-TOF MS **siempre** debe compararse con la morfología microscópica y en placa del microorganismo. Esto incluye la tinción de Gram, la morfología de la colonia, la tasa de crecimiento y las condiciones de cultivo.

Evaluación de la calidad espectral: La calidad del espectro generado por MALDI-TOF MS impacta directamente la confiabilidad de la identificación. Un espectro de mala calidad puede deberse a una preparación inadecuada de la muestra o a problemas con el instrumento, en ese caso, el operador verá una leyenda del tipo “no picos” o “espectro incorrecto”. Un espectro de buena calidad, pero con una identificación inesperada, del tipo “No Identificación confiable”, podría indicar que el microorganismo no está en la base de datos o que hay contaminación en la muestra.

Resolución de discrepancias: Si existe una discrepancia entre la identificación de MALDI-TOF MS y otras observaciones, se debe realizar una investigación. Esto puede implicar repetir el análisis, utilizar un tercer método de identificación (como secuenciación) o consultar con expertos.



Nivel de informe: La identificación debe informarse al nivel taxonómico más preciso posible. Sin embargo, en algunos casos, puede ser apropiado informar a nivel de género o grupo.

Limitaciones del método: Es fundamental comprender y conocer las limitaciones de MALDI-TOF MS. Algunos microorganismos pueden ser difíciles de identificar con este método, y ciertas especies pueden ser indistinguibles.

En Argentina, la Red Nacional de Espectrometría de Masas (ReNaEM) ha desarrollado una guía detallada para la interpretación de resultados obtenidos mediante MALDI-TOF MS. Esta guía se basa en una exhaustiva revisión bibliográfica y en los resultados de ensayos de verificación realizados por laboratorios de referencia a nivel nacional. Proporciona recomendaciones precisas sobre cómo informar los resultados y sugiere pruebas complementarias para confirmar identificaciones ambiguas. Este manual se encuentra en constante actualización y la tercera edición ya está disponible para su descarga en el siguiente enlace <https://sgc.anlis.gob.ar/handle/123456789/2627>.

6.1. Bases de datos

6.1.1. Microorganismos declarados

Los sistemas MALDI-TOF MS, al ser pruebas IVD, están autorizados para la identificación de microorganismos específicos "declarados". Para los "no declarados", se necesitan pruebas complementarias, a menos que el laboratorio haya validado el sistema para esos organismos. Las plataformas MALDI-TOF MS comerciales presentan bases de datos con espectros proteicos de referencias de géneros y especies declarados durante las autorizaciones regulatorias (ej. FDA 510k) en las cuales se incluyen ensayos de validación clínica para la identificación de esas especies y se definen las limitaciones. Pero también incluyen espectros de referencias de especies no declaradas (base RUO). Es importante que los usuarios soliciten a los proveedores las últimas actualizaciones de especies declaradas en las últimas versiones de sus bases de datos. En el Anexo I se detallan los géneros y especies bacterianas (excepto micobacterias) declarados en los documentos 510K de la FDA por las dos plataformas comerciales más ampliamente utilizadas.

6.1.2. Microorganismos desconocidos o no declarados

Los microorganismos no declarados son especies que han sido validadas por el fabricante, pero que aún no están aprobadas/autorizadas para su notificación por parte de una organización reguladora. Al implementar la tecnología MALDI-TOF MS, es crucial establecer un protocolo riguroso para la validación de resultados, especialmente cuando se trata de microorganismos desconocidos, no declarados por el fabricante, o de alta significancia clínica. El laboratorio debe crear una lista que especifique qué identificaciones MALDI-TOF MS son aceptables para su notificación directa y cuáles requieren pruebas adicionales. Cualquier género y especie desconocido para el laboratorio, debe ser confirmado por métodos adicionales antes de su informe. El director del laboratorio debe definir el tipo y alcance de las pruebas complementarias, considerando si la identificación es "declarada" o "no declarada", familiar o inusual. En algunos casos, algunas pocas pruebas fenotípicas sencillas y rápidas pueden ser suficiente. En otros, se requieren análisis de secuencias o envío a un laboratorio de referencia.

6.1.3. Identificaciones divididas

Cuando existe una coincidencia de alta confianza entre el espectro producido por el aislamiento en estudio y el espectro de referencia de una especie representada en la base de datos espectral, **se puede**



asignar la identificación a dicha especie, siempre que los valores de confianza de las coincidencias con otras especies sean significativamente más bajos. Si bien no existe un punto de corte establecido en ninguna normativa, para las plataformas que asignan un valor numérico de *score* o puntaje, **se considera generalmente que debe haber al menos una diferencia del 10% en el valor del *score* entre la primera especie y la segunda coincidencia con otra especie.**

En los casos donde no hay suficiente separación entre los valores de confianza de las coincidencias cercanas, **se puede generar una lista breve de posibles identificaciones.** Estas identificaciones "divididas" pueden incluir:

- Varias especies de un solo género.
- Especies de diferentes géneros.

Cuando se listan varias especies de diferentes géneros, se deben realizar pruebas complementarias para determinar la designación de género correcta. Si se listan varias especies de un solo género, es importante considerar **primero la necesidad clínica de una identificación a nivel de especie.**

6.1.4. Bases de datos extendidas

Muchos grupos de investigadores generan librerías de espectros de referencia para complementar las bases de datos comerciales, principalmente con especies poco representadas en las mismas. Sin embargo, si el laboratorio clínico decide incorporar esas librerías, debe tener en cuenta que son bases de datos RUO.

6.1.5. Actualización de bases de datos comerciales

El laboratorio clínico debe estar constantemente atento a las actualizaciones en técnicas, equipos y bases de datos para mantener la calidad y eficacia en sus procesos diagnósticos. La plataforma MicrobeNet, curada por los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC), ofrece una valiosa herramienta en línea y gratuita para los usuarios de Bruker MALDI Biotyper. Esta plataforma proporciona una base de datos extendida que incluye microorganismos poco comunes de la colección de cultivos del CDC, además de incorporar la versión más reciente de la base de datos de Bruker Biotyper. Esta característica resulta especialmente beneficiosa para aquellos laboratorios que, debido a limitaciones tecnológicas, no pueden actualizar sus sistemas directamente. A través de MicrobeNet (microbenet.cdc.gov), estos laboratorios pueden acceder fácilmente a las últimas actualizaciones de la base de datos, asegurando así la continuidad y precisión de sus análisis microbiológicos.

6.2. Consideraciones para la comunicación de resultados

La implementación de MALDI-TOF MS permite identificar microorganismos con mayor precisión, a nivel de especie o subespecie, en comparación con los métodos tradicionales. Sin embargo, esta capacidad plantea un desafío importante para los laboratorios: **Analizar la pertinencia clínica y determinar cuándo informar la identificación taxonómica precisa y cuándo utilizar términos más generales.**

Cuando un microorganismo se nombra específicamente en un informe de cultivo, los médicos pueden inferir que el aislado es clínicamente significativo. Informar resultados taxonómicamente precisos que carecen de pertinencia clínica (por ejemplo, flora normal de sitios no estériles) puede conducir a un uso excesivo de la terapia antimicrobiana y/o un aumento en las solicitudes de pruebas de sensibilidad.

Por lo tanto, el laboratorio debe establecer las directrices para el informe de resultados de la identificación por MALDI-TOF MS considerando el sitio de origen de la muestra (sitio normalmente estéril o



colonizado por microbiota), método de obtención de la muestra (procedimiento invasivo o no invasivo), calidad de la muestra y los factores predisponentes del huésped (inmunocompromiso, comorbilidad de riesgo, etc). Es importante que cuando el laboratorio implemente esta tecnología, **involucre a los médicos** en la definición de directrices y les explique las implicaciones de la nueva tecnología.

6.3. Consideraciones sobre la taxonomía

Es probable que la base de datos MALDI-TOF MS contenga una taxonomía actualizada que podría ser desconocida para el laboratorio o el personal clínico. Cuando el laboratorio se encuentra ante una identificación desconocida, se recomienda revisar si se trata de una especie conocida que ha sido recientemente reclasificada e informar con la aclaración de la nomenclatura anterior. Por ejemplo: *Schaalia turicensis*, anteriormente *Actinomyces turicensis*; *Thomasclavelia ramnosa*, anteriormente *Clostridium ramosum* o *Cutibacterium acnes*, anteriormente *Propionibacterium acnes*.

El sitio **Bacterio.net** (www.bacterio.net) es una base de datos en línea que se ha convertido en una referencia indispensable para los microbiólogos, biólogos y todos aquellos interesados en la taxonomía bacteriana. Este recurso digital ofrece una amplia y actualizada información sobre la nomenclatura, clasificación y filogenia de las bacterias. Si queremos buscar información sobre la especie *Cutibacterium acnes*, simplemente ingresamos el nombre en el buscador de Bacterio.net y obtendremos una página con todos los detalles relevantes, incluyendo su clasificación taxonómica correcta actual, y en la sesión sinónimos, se encontrará la nomenclatura anterior.

Además de informar sobre la taxonomía actualizada de los organismos conocidos, es probable que MALDI-TOF MS identifique microorganismos que son completamente desconocidos (por cualquier nombre) para el personal de laboratorio y los médicos. Se sugiere que el laboratorio pueda proporcionar un comentario interpretativo sobre la importancia clínica de dichos organismos, junto con referencias y perfiles de susceptibilidad a los antimicrobianos (si se conocen). A continuación, se ofrecen algunos ejemplos:

“*Exiguobacterium* sp., son bacilos grampositivos corineiformes, el potencial patogénico de estas especies parece ser bastante bajo; han sido aislada de diferentes fuentes (piel, heridas y líquido cefalorraquídeo) y casos de pseudobacteriemia. Son generalmente susceptibles a todas las clases de antibióticos.”

“*Inquilinus limosus*” bacilos gramnegativos no fermentadores. Aislado en infecciones crónicas en pacientes con fibrosis quística y asociado con una función pulmonar baja y en declive. Según la literatura, presentan resistencia a aztreonam, ceftazidima, cefepima, piperacilina-tazobactam, ticarcilina-clavulanato y tobramicina. Muestran una susceptibilidad casi universal a los carbapenémicos, principalmente meropenem. La susceptibilidad es variable a trimetoprima-sulfametoxazol, tetraciclinas, amikacina, colistina y gentamicina “

7. Validación y verificación

Es fundamental comprender la diferencia entre estos dos conceptos. La **validación** se aplica a sistemas de prueba no autorizados para pruebas de diagnóstico in vitro, sistemas modificados por el usuario final o aplicaciones no autorizadas de un sistema de prueba, como la identificación de organismos no aprobados por



la organización reguladora. La **verificación** se realiza para sistemas de prueba comerciales no modificados aprobados para pruebas de diagnóstico *in vitro*. En el Anexo II se incluyen definiciones y conceptos asociados a los procesos de validación y verificación que son útiles para comprender varias sesiones de esta guía.

7.1. Tipos de estudios

7.1.1. Estudio de Verificación Exhaustivo

Se realiza al introducir un nuevo sistema de prueba en el laboratorio, antes de su uso en muestras de pacientes. Evalúa la exactitud, comparando los resultados con un método de referencia, y la precisión, analizando la reproducibilidad de los resultados. Se recomienda un tamaño de muestra mínimo de **30 aislados por cada categoría principal** de microorganismos definidas por el fabricante para evaluar precisión. Para evaluar exactitud se recomienda probar 10 aislados durante 3 días.

La guía M58 de CLSI establece que la responsabilidad de establecer dichas categorías recae en el director del laboratorio. Sin embargo, sugiere a modo de ejemplo las categorías, las especies y la cantidad de aislados a evaluar en un ensayo de verificación exhaustivo (Anexo III). De cualquier forma, cada laboratorio debe adaptar la lista según sus necesidades.

La experiencia en Argentina, a través del ReNaEM, definió que la selección de aislados debe ser representativa de la diversidad microbiana encontrada en el laboratorio, abarcando tanto especies comunes como cepas desafiantes, que pueden ser difíciles de identificar. La clasificación de los microorganismos se realizó en las siguientes categorías: bacilos Gram negativos no fermentadores, enterobacterales, cocos Gram positivos aerobios, bacilos Gram positivos aerobios y bacterias anaerobias.

También es importante definir cuál es el método de referencia para realizar estudios de verificación, ya que los métodos fenotípicos basados en pruebas bioquímicas aportan resolución para algunos de los géneros y especies bacterianos. La guía M18 de CLSI establece las dianas genéticas recomendadas deben ser utilizadas para la identificación de referencia (Consultar Anexo IV).

7.1.2. Estudio de Verificación Limitado

Es apropiado para nuevas aplicaciones de un sistema de prueba de diagnóstico *in vitro* existente (por ejemplo, la identificación de organismos declarados no incluidos en la verificación inicial), la actualización de software o ante el reemplazo de un sistema existente por uno nuevo de la misma plataforma y modelo. Para evaluar precisión y exactitud se recomienda probar 10 aislados representativos 3 veces durante 3 días.

7.1.3. Cambios que No Requieren Verificación

El mantenimiento de rutina, las reparaciones o las actualizaciones del sistema no requieren estudios de verificación si no se modifican la aplicación o el método.

7.2. Criterios de Aceptación

Exactitud: Se evalúa mediante la comparación de los resultados de identificación obtenidos con el MALDI-TOF MS y un método de referencia. Se debe determinar el número de identificaciones correctas a nivel de especie y género, así como el número de identificaciones erróneas.

Precisión: Se evalúa mediante la reproducibilidad de los resultados. Se deben analizar los resultados dentro de las corridas, entre corridas, entre usuarios y durante varios días consecutivos. Se debe usar un panel de aislados bien caracterizados para la evaluación de la precisión.



Evaluación Individual de Identificaciones Incorrectas: Además del análisis global de los datos, se deben considerar individualmente todas las identificaciones incorrectas para determinar su relevancia clínica y la aceptabilidad del método para identificar ese microorganismo en particular.

7.3. Análisis de los Resultados de la Verificación

Una vez finalizadas las pruebas y cualquier repetición, los resultados obtenidos con el MALDI-TOF MS se comparan con los del método de referencia. El análisis de resultados debe incluir:

- Número de identificaciones precisas a nivel de especie: género y especie correctos.
- Número de identificaciones precisas a nivel de género: el género es correcto, pero la especie está dividida, lo cual es aceptable a nivel de género.
- Número de identificaciones erróneas a nivel de especie: el género es correcto, pero la especie es incorrecta.
- Número de identificaciones erróneas a nivel de género: el resultado incluye una opción con género incorrecto o identificaciones divididas con una o más opciones incorrectas a nivel de género.
- Número de errores de identificación: no se proporcionó identificación o no se encontraron picos.

La precisión se calcula como el número de identificaciones correctas o aceptables dividido por el número total de aislados analizados que dieron un resultado de identificación. En general, el método se considera verificado si la exactitud y la precisión globales obtenidas durante el estudio cumplen o superan las características de funcionamiento establecidas por el fabricante.

Sin embargo, además de analizar los datos en conjunto, todas las identificaciones incorrectas deben considerarse individualmente para evaluar su relevancia clínica y determinar si el nuevo método es aceptable para identificar el microorganismo o clase de microorganismos en cuestión.

Si los resultados del MALDI-TOF MS no cumplen con los criterios de aceptabilidad, el método debe considerarse no verificado y no debe implementarse para pruebas de aislamiento de pacientes. Tras adoptar medidas correctivas, incluidas conversaciones con el fabricante, el estudio de verificación puede repetirse si es necesario.

7.4. Documentación Requerida

Protocolo de Verificación: Se debe elaborar un protocolo escrito que defina los ensayos a realizar, los aislados a incluir, las variables previas al examen a evaluar, los métodos de análisis de resultados, los criterios de aceptación y los métodos de resolución de discrepancias. El protocolo debe definir claramente los objetivos del estudio, la población de microorganismos a evaluar, los métodos de referencia a utilizar, las variables pre-analíticas a considerar (medios de cultivo, tiempo de incubación, métodos de extracción), los criterios de aceptación y los métodos para la resolución de discrepancias

Registros de Pruebas: Se deben documentar todos los resultados de las pruebas, incluyendo las identificaciones obtenidas, los valores de puntuación de confianza y cualquier discrepancia o problema encontrado.



Informe de Verificación: Se debe elaborar un informe que resuma los resultados del estudio de verificación, incluyendo el análisis de la exactitud y la precisión, la evaluación de las identificaciones incorrectas y la conclusión sobre la aceptabilidad del sistema para su uso en pruebas de pacientes.

7.5. Evaluación de Desempeño

Control de Calidad Continuo: Una vez que el sistema se ha verificado e implementado, es crucial realizar un control de calidad continuo para garantizar un rendimiento constante. Se deben analizar cepas de control positivo y negativo regularmente, siguiendo las recomendaciones del fabricante y las regulaciones aplicables.

8. Capacitación y evaluación de competencias

La implementación exitosa de la tecnología MALDI-TOF MS en laboratorios clínicos requiere un programa exhaustivo de capacitación del personal para garantizar la precisión de los resultados, la seguridad del paciente y el cumplimiento de estándares de calidad. El programa de capacitación debe incluir un entrenamiento inicial, evaluación continua de competencias y educación permanente.

8.1. Programa de Entrenamiento Inicial

El programa inicial debe cubrir todas las fases del proceso, desde la teoría básica hasta la resolución de problemas:

8.1.1. Conocimiento Teórico

El primer paso consiste en una revisión exhaustiva de los manuales de usuario proporcionados por el fabricante y de los Procedimientos Operativos Estándar (POE) establecidos por el laboratorio, abarcando los principios fundamentales de la tecnología MALDI-TOF MS, el funcionamiento del equipo con énfasis en su configuración y mantenimiento básico, el uso del software asociado con un enfoque en la gestión de datos y la interpretación de resultados, así como las medidas de seguridad necesarias para proteger tanto al personal como a las muestras.

8.1.2. Selección y Manejo de Muestras

Una parte esencial del entrenamiento es la capacitación en la selección adecuada de aislados para su análisis, lo que implica identificar el medio de cultivo apropiado y determinar la edad óptima de las colonias, evitar el uso de cultivos mixtos que puedan comprometer la calidad de los resultados, y aplicar métodos seguros de manejo y procesamiento de muestras, considerando los riesgos biológicos específicos asociados con diferentes microorganismos.

8.1.3. Preparación de muestras para análisis

La calidad de los resultados depende en gran medida de una preparación adecuada de las muestras. El entrenamiento debe centrarse en:

- Técnicas precisas de transferencia directa de colonias y métodos de extracción.
- La importancia de un pipeteo preciso y uniforme.
- La correcta aplicación de la matriz para garantizar la reproducibilidad de los resultados.



8.1.4. Análisis de Datos e Interpretación de Resultados

Los participantes del entrenamiento deben adquirir una comprensión profunda de cómo se generan los espectros y qué información revelan sobre la composición proteica del microorganismo analizado. Es fundamental destacar que la calidad del espectro es crucial para lograr una identificación confiable; un espectro de mala calidad puede ser resultado de una preparación inadecuada de la muestra, la presencia de contaminantes o un mal funcionamiento del instrumento. La correlación de los resultados obtenidos mediante MALDI-TOF MS con características fenotípicas tradicionales es esencial para validar la identificación y prevenir errores. Elementos como la tinción de Gram, la morfología de la colonia, la tasa de crecimiento y los resultados de susceptibilidad antimicrobiana (cuando estén disponibles) deben ser consistentes con la identificación proporcionada por el sistema. Los participantes deben aprender a interpretar los valores de puntuación de confianza (score o porcentaje según la plataforma) y establecer umbrales que les permitan determinar cuándo son necesarias pruebas complementarias.

8.1.5. Pruebas Complementarias y Resolución de Problemas

El entrenamiento del personal debe estar diseñado para equiparlos con las habilidades necesarias para enfrentar desafíos técnicos o interpretativos que puedan surgir en el laboratorio. Para ello, es crucial establecer procedimientos claros que guíen al personal en el manejo de resultados discordantes o inesperados. Estos procedimientos deben incluir pasos específicos para la revisión de las muestras, la repetición de análisis y la consulta con colegas o expertos cuando sea necesario. Además, se deben desarrollar estrategias efectivas para abordar identificaciones inusuales o aquellas con un bajo nivel de confianza, lo que es fundamental para garantizar la fiabilidad de los resultados obtenidos. Estas estrategias pueden incluir la implementación de controles de calidad, la utilización de métodos complementarios de identificación y la comunicación abierta entre el personal para discutir casos complejos. Al integrar estos elementos en el programa de entrenamiento, se asegura que el personal no solo sea competente en el uso de las tecnologías de análisis, sino también en la interpretación crítica de los resultados, lo que contribuye a mejorar la precisión diagnóstica y la atención al paciente.

8.2. Evaluación de competencias

La evaluación de competencias es un aspecto fundamental antes de permitir que el personal realice pruebas clínicas, ya que garantiza que los profesionales estén debidamente preparados para llevar a cabo análisis de calidad y precisión. Este proceso de evaluación debe abarcar tanto aspectos teóricos como prácticos, comenzando con un examen que incluya un componente teórico y práctico que cubra todos los elementos del análisis microbiológico. La utilización de paneles de desafío con organismos caracterizados, que incluyan aislados tanto sencillos como complejos, permite evaluar la precisión y reproducibilidad en las identificaciones. Además, es esencial llevar a cabo evaluaciones periódicas para asegurar un desempeño constante del personal. Estas evaluaciones pueden incluir exámenes escritos u orales, observación directa de las prácticas en el laboratorio y la implementación de paneles de prueba ciegos que simulen situaciones reales. En caso de que un miembro del personal no alcance los umbrales mínimos de puntuación de confianza, se debe considerar el reentrenamiento, lo cual no solo refuerza las habilidades técnicas, sino que también promueve una cultura de mejora continua y compromiso con la calidad en el laboratorio clínico.



8.3. Educación continua

La educación continua es esencial para que el personal del laboratorio se mantenga actualizado sobre los avances tecnológicos y las mejores prácticas. Para lograr esto, se recomienda realizar una revisión anual de las instrucciones del fabricante y de las alertas técnicas, lo que permite al personal familiarizarse con las últimas innovaciones y directrices de uso de los equipos. Además, la participación en programas internos y externos de pruebas de aptitud es fundamental, ya que proporciona una oportunidad para evaluar y comparar el desempeño del laboratorio con estándares reconocidos. La discusión y el análisis de resultados inusuales también juegan un papel crucial en el aprendizaje continuo, fomentando un entorno colaborativo donde se pueden abordar retos y compartir conocimientos.

8.4. Documentación de la Capacitación

Finalmente, es esencial documentar todas las actividades de capacitación. Esto abarca desde los contenidos y materiales utilizados hasta los resultados de las evaluaciones de competencia. Una documentación exhaustiva asegura el cumplimiento con los requisitos regulatorios y facilita auditorías externas e internas.

9. Aseguramiento de la Calidad en MALDI-TOF MS

Un programa sólido de aseguramiento de la calidad es esencial para garantizar la precisión, confiabilidad y rendimiento constante de los sistemas MALDI-TOF MS en el laboratorio de microbiología. Este programa debe abarcar diversos aspectos, incluyendo controles internos, participación en programas externos de control de calidad, monitoreo de indicadores de calidad, y una meticulosa documentación de los procesos y resultados.

9.1. Controles Internos

Control de Calidad: Se debe incluir controles de calidad positivos y negativos en un cronograma determinado por las recomendaciones del fabricante y las pautas regulatorias relevantes. Los controles positivos consisten en cepas bien caracterizadas elegidas por el fabricante para demostrar que el analizador de masas y los sistemas relacionados (software y base de datos) están funcionando según las especificaciones, que los reactivos consumibles y los portaobjetos o placas son adecuados para respaldar el análisis, y que los métodos aplicados por los usuarios (localización y extracción cuando corresponda) se están realizando de manera competente.

Las fallas de identificación o las identificaciones erróneas obtenidas mediante cepas de control de calidad deben dar lugar a una investigación. Los controles negativos consisten únicamente en reactivos (generalmente matriz HCCA) y se incluyen como una forma de detectar resultados falsos positivos, así como la contaminación de los reactivos. En el caso de los laboratorios que utilizan placas reusables, el control negativo se puede mover a diferentes posiciones entre corridas para controlar la limpieza y descontaminación adecuadas de toda la superficie. Las fallas de control de calidad deben documentarse y esta documentación debe revisarse periódicamente

Calibración Interna: La calibración del instrumento se realiza de forma automática con cada ejecución, utilizando una cepa de calibración específica o un calibrador químico según la plataforma. Esta calibración verifica que el sistema cumple con las especificaciones predefinidas y realiza los ajustes necesarios para



optimizar su rendimiento. Los resultados de calibración que estén fuera del rango aceptable deben ser investigados, y, de ser necesario, se deben implementar medidas correctivas. Los errores del usuario, como una técnica inadecuada, pueden ocasionar resultados fuera de rango, por lo que es esperable que ocurran fallos de calibración ocasionales durante el proceso. Sin embargo, cuando los errores son recurrentes, podrían señalar un problema subyacente en el sistema o en su manejo por parte de los usuarios, lo que requiere una investigación exhaustiva.

Almacenamiento de reactivos: Todos los reactivos deben ser almacenados siguiendo las recomendaciones del fabricante y con un exhaustivo registro de los números de lote en uso.

Mantenimiento Preventivo: El mantenimiento regular del instrumento, según las recomendaciones del fabricante, es crucial para asegurar un funcionamiento óptimo y prevenir fallas. Este mantenimiento puede incluir la limpieza de componentes, la verificación del sistema de vacío y la sustitución de piezas desgastadas. y debe ser proporcionado por servicio técnico especializado, reconocido por el fabricante.

9.2. Controles Externos

Pruebas de Aptitud: La participación en programas de pruebas de aptitud externos, organizados por entidades acreditadas, permite evaluar el rendimiento del laboratorio en comparación con otros laboratorios y detectar posibles áreas de mejora. Estos programas proporcionan muestras desconocidas para su análisis e identificación, y los resultados obtenidos se comparan con los resultados esperados.

Comparación Interlaboratorios: La participación en programas de comparación interlaboratorios, donde se intercambian muestras con otros laboratorios que utilizan la misma tecnología MALDI-TOF MS, puede ser útil para evaluar la variabilidad entre laboratorios y detectar posibles sesgos o errores sistemáticos.

9.3. Indicadores de Calidad

Tasa de Identificación Correcta: El porcentaje de identificaciones correctas a nivel de especie y género es un indicador clave de la exactitud del sistema MALDI-TOF MS. Se debe monitorear esta tasa y establecer objetivos para asegurar un alto nivel de precisión.

Tasa de Identificación Incorrecta: La tasa de identificaciones incorrectas debe ser lo más baja posible. Es importante analizar cada identificación incorrecta para determinar la causa del error (por ejemplo, preparación inadecuada de la muestra, error del usuario, limitación de la base de datos) e implementar acciones correctivas.

Tasa de Fallas de Identificación: El porcentaje de casos en los que el sistema MALDI-TOF MS no puede proporcionar una identificación debe ser monitoreado. Un aumento en la tasa de fallos puede indicar problemas con el instrumento, los reactivos o la base de datos.

Tiempos de Respuesta: El tiempo que se tarda en obtener una identificación mediante MALDI-TOF MS es una ventaja significativa de esta tecnología. Se debe monitorear el tiempo de respuesta y buscar maneras de optimizar el flujo de trabajo para mantener la eficiencia.

Satisfacción del Usuario: Es importante recopilar la opinión de los usuarios del sistema MALDI-TOF MS, incluyendo médicos, microbiólogos y técnicos de laboratorio, para identificar áreas de mejora y asegurar que la tecnología cumple con las necesidades del laboratorio y sus usuarios.



9.4. Documentación y Registros

Procedimientos Operativos Estandarizados (POE): Se deben documentar detalladamente todos los procedimientos relacionados con el sistema MALDI-TOF MS, incluyendo la preparación de muestras, reactivos, la operación del instrumento, la interpretación de resultados, el control de calidad y el mantenimiento.

Registros de Control de Calidad: Todos los resultados de control de calidad, incluyendo las identificaciones obtenidas, los valores de puntuación de confianza y cualquier falla o problema detectado, deben ser registrados y revisados periódicamente.

Registros de Mantenimiento: Se deben mantener registros de todas las actividades de mantenimiento preventivo y correctivo realizadas en el sistema MALDI-TOF MS, incluyendo la fecha, el tipo de mantenimiento, el personal responsable y cualquier observación o problema encontrado.

Registros de Capacitación y Evaluación: Se debe documentar la capacitación del personal en el uso del sistema MALDI-TOF MS, incluyendo la fecha de la capacitación, el contenido de la misma y la evaluación de la competencia del personal.

10. Aspectos Regulatorios

El uso de MALDI-TOF MS está sujeto a regulaciones específicas que varían según la región. Por ejemplo, la norma ISO 15189 establece estándares internacionales para laboratorios médicos, mientras que en Europa la Directiva 98/79/CE regula los productos de diagnóstico in vitro. En Estados Unidos, las regulaciones de CLIA definen los estándares de calidad para los laboratorios clínicos.

Los laboratorios que emplean esta tecnología deberían contar con certificaciones reconocidas, como las otorgadas por la ISO o el *College of American Pathologists* (CAP). Estas certificaciones garantizan que se cumplen los estándares de calidad y aumentan la confianza en los resultados.

Además, la documentación detallada de todos los aspectos relacionados con MALDI-TOF MS, como la verificación del sistema, los procedimientos operativos, el mantenimiento del instrumento y la capacitación del personal, es esencial para garantizar la trazabilidad y demostrar el cumplimiento de las normativas aplicables.

Por último, los laboratorios deben someterse a auditorías periódicas realizadas por organismos reguladores o de acreditación. Estas auditorías, junto con una supervisión interna regular, son fundamentales para identificar y corregir posibles deficiencias y mantener la calidad del servicio.

11. Integración de MALDI-TOF MS con los sistemas de pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos

La integración de MALDI-TOF MS con sistemas de prueba de susceptibilidad a los antimicrobianos (AST, por sus siglas en inglés), es crucial para garantizar la correcta interpretación de los resultados microbiológicos y antimicrobianos. La implementación de flujos de trabajo automatizados y la comunicación entre sistemas deben ser prioridades para optimizar la eficiencia y la precisión en los laboratorios de microbiología clínica. Por lo tanto, una consideración muy importante para la compra de un MALDI-TOF es la capacidad de interactuar con sistemas de software de susceptibilidad y/o sistemas de información de laboratorio.



En laboratorios que utilizan sistemas automatizados de identificación bioquímica, los resultados de identificación y de AST suelen provenir del mismo instrumento o panel, lo que facilita su integración y la correcta aplicación de los criterios interpretativos.

En laboratorios que emplean MALDI-TOF MS, surge el desafío de vincular los resultados de identificación obtenidos por este sistema con los resultados de AST provenientes de otros instrumentos, para garantizar la aplicación adecuada de los criterios interpretativos.

El documento M58 del CLSI sugiere algunas soluciones posibles:

Vinculación directa entre MALDI-TOF MS y el sistema AST

En este modelo, los resultados de identificación generados por MALDI-TOF MS se transmiten directamente al sistema AST mediante un número de muestra común. Este enfoque es ideal porque se asemeja a los flujos de trabajo tradicionales que los laboratorios seguían antes de implementar MALDI-TOF MS.

Integración a través del Sistema de Información de Laboratorio (SIL)

Si MALDI-TOF MS está conectado al SIL, puede ser posible transferir los resultados de identificación al sistema AST, siempre que exista una interfaz bidireccional entre ambos sistemas. Sin embargo, si no se dispone de dicha interfaz, el SIL no podrá acoplar automáticamente los resultados de AST con las identificaciones microbianas. En este caso, las reglas de interpretación de AST deben configurarse directamente en el SIL en lugar de en el sistema AST.

Introducción manual de datos

En ausencia de una solución automatizada, el laboratorio puede optar por ingresar manualmente los resultados de identificación al sistema AST. Aunque menos eficiente, esta opción permite mantener la conexión entre ambos conjuntos de datos.

13. Preguntas frecuentes

1. ¿Cuánto tiempo se puede almacenar una MALDI placa preparada antes del análisis?

La placa puede analizarse inmediatamente después de que la matriz se haya secado al aire. Si es necesario, la placa preparada puede almacenarse a temperatura ambiente durante varias horas antes del análisis o re-análisis, siempre que esté protegida de la luz y en ambiente fresco y seco, pero no en heladera. No se recomienda en ningún caso almacenar placas sembradas con microorganismos sin haber sido selladas con la matriz.

2. ¿Es seguro almacenar las MALDI placas sembradas durante períodos prolongados?

El almacenamiento prolongado depende de las instrucciones del fabricante del instrumento. Si no hay orientación específica o se desea exceder las recomendaciones, el laboratorio debe realizar un estudio de validación para asegurarse de que la calidad espectral y la precisión de identificación no se vean afectadas.

5. ¿Cuáles son las posibles causas de una identificación ausente o inesperada?

- Falta de adición de matriz antes del análisis.
- Cantidad incorrecta de biomasa utilizada.
- Contaminación con agar o espécimen primario.
- Reactivos caducados, evaporados, cristalizados o preparados incorrectamente.



- Organismos demasiado viejos o jóvenes, o refrigerados antes del análisis.
- Problemas técnicos como ralladuras en la placa, intensidad láser inadecuada o fallos del detector.

6. ¿Qué hacer si se genera un espectro de buena calidad, pero la identificación es inesperada o dividida?

Esto podría deberse a:

- Transferencia de la muestra al lugar equivocado en la placa objetivo.
- Contaminación cruzada de muestras.
- Cultivo mixto o reactivos contaminados.
- Organismos no representados en la base de datos.

8. ¿Qué precauciones deben tomarse para evitar contaminación cruzada durante la preparación?

- Utilizar puntas de pipetas individuales para cada punto de la placa.
- Limpiar adecuadamente las placas reutilizables.
- Aplicar buenas prácticas de manipulación al transferir muestras.

9. ¿Cada cuánto tiempo se debe realizar el mantenimiento preventivo del equipo?

El mantenimiento preventivo debe realizarse según las recomendaciones del fabricante, generalmente una vez al año, incluyendo calibración, limpieza de componentes críticos y actualización de software.

10. ¿Cómo afecta el estado de los reactivos al rendimiento del sistema?

Reactivos caducados, cristalizados o mal preparados pueden generar espectros de baja calidad, identificaciones incorrectas o fallos de identificación. Es fundamental almacenarlos correctamente y verificar su estado antes de usarlos.

REFERENCIAS

CLSI. (2008). Interpretive Criteria for Identification of Bacteria and Fungi by DNA Target Sequencing; Approved Guideline (2nd ed.). CLSI document M18-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

CLSI. (2017). Methods for the Identification of Cultured Microorganisms using Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry (1st ed.). CLSI guideline M58. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

Cuénod, A., Foucault, F., Pflüger, V., & Egli, A. (2021). Factors associated with MALDI-TOF mass spectral quality of species identification in clinical routine diagnostics. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11, 646648.

ISO. (2012). Medical laboratories — Requirements for quality and competence (ISO Standard No.



INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS
(INEI)
15189:2012).



Prieto, M., Rocca, F., Almuzara, M., Barberis, C., & Vay, C. (2024). Guía de identificación microbiológica mediante MALDI-TOF MS: Recomendaciones y limitaciones para diversos géneros bacterianos de importancia clínica (3ra ed.). ANLIS Dr.C.G. Malbrán. <https://sgc.anlis.gob.ar/handle/123456789/2627>

Rocca, F., Prieto, M., Martínez, C., Cipolla, L., Armitano, R., Martínez, G., & D'Angiolo, G. (2022). Manual de uso de MALDI-TOF: Procedimiento operativo estándar. ANLIS Dr.C.G.Malbrán. <http://sgc.anlis.gob.ar/handle/123456789/2421>

Topić Popović, N., Kazazić, S. P., Bojanić, K., Strunjak-Perović, I., & Čož-Rakovac, R. (2023). Sample preparation and culture condition effects on MALDI-TOF MS identification of bacteria: A review. *Mass Spectrometry Reviews*, 42(5), 1589-603.

Sitios web de interés

www.microbenet.cdc.gov

<https://www.argentina.gob.ar/salud/anlis/inei/departamento-bacteriologia/servicio-bacteriologia-especial>

<https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfpmn/pmn.cfm?ID=K163536>

<https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfpmn/pmn.cfm?id=K212461>

www.bacterio.net

<https://www.cap.org/>

Anexo I: Géneros y especies bacterianos reclamados ante



INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS
(INEI)

FDA⁴



Vitek MS Prime (bioMérieux)	MALDI Biotyper CA (Bruker)	Nomenclatura actual (2024)
<i>Abiotrophia defectiva</i>	<i>Abiotrophia defectiva</i>	
<i>Achromobacter denitrificans</i>		
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Acinetobacter baumannii/ nosocomialis group	
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>		
<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	
<i>Acinetobacter johnsonii</i>	<i>Acinetobacter johnsonii</i>	
<i>Acinetobacter junii</i>	<i>Acinetobacter junii</i>	
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	
<i>Acinetobacter nosocomialis</i>		
<i>Acinetobacter pittii</i>	<i>Acinetobacter pittii</i>	
	<i>Acinetobacter radioresistens</i>	
	<i>Acinetobacter ursingii</i>	
<i>Actinomyces bovis</i>		
	<i>Actinomyces europaeus</i>	
	<i>Actinomyces funkei</i>	<i>Schaalia funkei</i>
	<i>Actinomyces graevenitzii</i>	
	<i>Actinomyces hyovaginalis</i>	<i>Schaalia hyovaginalis</i>
<i>Actinomyces israelii</i>		
<i>Actinomyces meyeri</i>	<i>Actinomyces meyeri</i>	<i>Schaalia meyeri</i>
<i>Actinomyces naeslundii</i>		
<i>Actinomyces neuii</i>	<i>Actinomyces neuii</i>	<i>Winkia neuii</i>
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	<i>Actinomyces odontolyticus</i>	<i>Schaalia odontolytica</i>
	<i>Actinomyces radingae</i>	<i>Schaalia radingae</i>
	<i>Actinomyces turicensis</i>	<i>Schaalia turicensis</i>
	<i>Actinomyces oris</i>	
	<i>Actinomyces urogenitalis</i>	
<i>Actinotignum schaalii</i>	<i>Actinotignum schaalii</i> group	
	<i>Aerococcus sanguinicola</i>	
	<i>Aerococcus urinae</i>	
<i>Aerococcus viridans</i>		

⁴ No se incluye en este listado las micobacterias



	<i>Aeromonas</i> sp.	
<i>Aeromonas hydrophila</i>		
<i>Aeromonas jandaei</i>		

Vitek MS Prime (bioMérieux)	MALDI Biotyper CA (Bruker)	Nomenclatura actual (2024)
<i>Aeromonas punctata (caviae)</i>		<i>Aeromonas caviae</i>
	<i>Aeromonas salmonicida</i>	
<i>Aeromonas sobria</i>		
<i>Aeromonas veronii</i>		
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	
<i>Aggregatibacter aphrophilus</i>	<i>Aggregatibacter aphrophilus</i>	
<i>Aggregatibacter segnis</i>	<i>Aggregatibacter segnis</i>	
<i>Alcaligenes faecalis ssp faecalis</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>	
	<i>Alloiococcus otitis</i>	
	<i>Alloscardovia omnicoles</i>	
	<i>Anaerococcus murdochii</i>	
	<i>Anaerococcus vaginalis</i>	
	<i>Arthrobacter cumminsii</i>	<i>Pseudoglutamicibacter cumminsii</i>
<i>Bacteroides caccae</i>	<i>Bacteroides caccae</i>	
<i>Bacteroides eggerthii</i>		
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Bacteroides fragilis</i>	
	<i>Bacteroides nordii</i>	
<i>Bacteroides ovatus / xylanisolvens</i>	<i>Bacteroides ovatus</i> group	
<i>Bacteroides pyogenes</i>	<i>Bacteroides pyogenes</i>	
	<i>Bacteroides salyersiae</i>	
<i>Bacteroides stercoris</i>	<i>Bacteroides stercoris</i> group	
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> group	
<i>Bacteroides uniformis</i>	<i>Bacteroides uniformis</i>	
<i>Bacteroides vulgatus</i>	<i>Bacteroides vulgatus</i> group	<i>Phocaeicola vulgatus</i>
<i>Bifidobacterium spp</i>	<i>Bifidobacterium breve</i>	
<i>Bilophila wadsworthia</i>		
	<i>Bordetella</i> group	
<i>Bordetella avium</i>		
<i>Bordetella bronchiseptica</i>		



	<i>Bordetella hinzii</i>	
<i>Bordetella parapertussis</i>		
<i>Bordetella pertussis</i>		
<i>Brevundimonas diminuta</i>	<i>Brevundimonas diminuta</i> group	
<i>Brevundimonas vesicularis</i>		
<i>Brucella spp</i>		
<i>Burkholderia cenocepacia</i>	Burkholderia cepacia complex	
<i>Burkholderia cepacia</i>		
Vitek MS Prime (bioMerieux)	MALDI Biotyper CA (Bruker)	Nomenclatura actual (2024)
<i>Burkholderia contaminans</i>		
<i>Burkholderia gladioli</i>	<i>Burkholderia gladioli</i>	
<i>Burkholderia multivorans</i>	<i>Burkholderia multivorans</i>	
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>		
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Campylobacter coli</i>	
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Campylobacter jejuni</i>	
<i>Campylobacter rectus</i>		
	<i>Campylobacter ureolyticus</i>	
	<i>Capnocytophaga ochracea</i>	
<i>Cedecea davisae</i>		
<i>Cedecea lapagei</i>		
<i>Cedecea neteri</i>		
<i>Chryseobacterium gleum</i>	<i>Chryseobacterium gleum</i>	
<i>Chryseobacterium indologenes</i>	<i>Chryseobacterium indologenes</i>	
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	<i>Citrobacter amalonaticus</i> group	
<i>Citrobacter braakii</i>		
<i>Citrobacter farmeri</i>		
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Citrobacter freundii</i> group	
<i>Citrobacter koseri</i>	<i>Citrobacter koseri</i>	
<i>Citrobacter youngae</i>		
<i>Clostridium baratii</i>		
<i>Clostridium beijerinckii</i>	<i>Clostridium beijerinckii</i>	
<i>Paraclostridium bifermentans</i>	<i>Clostridium bifermentans</i>	<i>Paraclostridium bifermentans</i>
<i>Clostridium butyricum</i>	<i>Clostridium butyricum</i>	
<i>Clostridium cadaveris</i>		



<i>Clostridium clostridioforme</i>	<i>Clostridium clostridioforme</i> group	<i>Enterocloster clostridioformis</i>
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Clostridium difficile</i>	<i>Clostridioides difficile</i>
<i>Clostridium innocuum</i>	<i>Clostridium innocuum</i>	
<i>Clostridium novyi</i>		
	<i>Clostridium paraputrificum</i>	
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Clostridium perfringens</i>	
<i>Clostridium ramosum</i>	<i>Clostridium ramosum</i>	<i>Thomasclavelia ramosa</i>
<i>Clostridium septicum</i>	<i>Clostridium septicum</i>	
	<i>Clostridium sordellii</i>	<i>Paeniclostridium sordellii</i>
<i>Clostridium sporogenes</i>	<i>Clostridium sporogenes/botulinum</i>	
<i>Clostridium tertium</i>	<i>Clostridium tertium</i>	
<i>Clostridium tetani</i>		

Vitek MS Prime (bioMerieux)	MALDI Biotyper CA (Bruker)	Nomenclatura actual (2024)
<i>Comamonas testosteroni</i>		
	<i>Corynebacterium accolens</i>	
	<i>Corynebacterium afermentans</i> group	
	<i>Corynebacterium amycolatum</i>	
	<i>Corynebacterium aurimucosum</i> group	
	<i>Corynebacterium bovis</i>	
	<i>Corynebacterium coyleae</i>	
	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	
	<i>Corynebacterium freneyi</i>	
	<i>Corynebacterium glucuronolyticum</i>	
	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	<i>Corynebacterium jeikeium</i>	
	<i>Corynebacterium kroppenstedtii</i>	
	<i>Corynebacterium macginleyi</i>	
	<i>Corynebacterium minutissimum</i>	
	<i>Corynebacterium mucifaciens/</i> <i>ureicelerivorans</i> group	
	<i>Corynebacterium propinquum</i>	
	<i>Corynebacterium</i> <i>pseudodiphtheriticum</i>	



	<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	
	<i>Corynebacterium resistens</i>	
	<i>Corynebacterium riegelii</i>	
	<i>Corynebacterium striatum</i> group	
	<i>Corynebacterium tuberculostearicum</i>	
	<i>Corynebacterium ulcerans</i>	
	<i>Corynebacterium urealyticum</i>	
	<i>Corynebacterium xerosis</i>	
<i>Cronobacter muytjensii</i>		
<i>Cronobacter sakazakii</i>	<i>Cronobacter sakazakii</i> group	
<i>Cronobacter turicensis</i>		
	<i>Cupriavidus pauculus</i> group	
	<i>Delftia acidovorans</i> group	
	<i>Dermabacter hominis</i>	
	<i>Dermaococcus nishinomiyaensis</i>	
<i>Edwardsiella hoshinae</i>		
<i>Edwardsiella tarda</i>	<i>Edwardsiella tarda</i>	
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>Eikenella corrodens</i>	

Vitek MS Prime (bioMerieux)	MALDI Biotyper CA (Bruker)	Nomenclatura actual (2024)
<i>Elizabethkingia anophelis</i>		
<i>Elizabethkingia meningoseptica</i>	<i>Elizabethkingia meningoseptica</i> group	
<i>Elizabethkingia miricola</i>		
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Klebsiella aerogenes</i>
	<i>Enterobacter amnigenus</i>	<i>Lelliottia amnigena</i>
<i>Enterobacter asburiae</i>		
<i>Enterobacter cancerogenus</i>		
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Enterobacter cloacae</i> complex	
<i>Enterobacter hormaechei</i>		
<i>Enterobacter kobei</i>		
<i>Enterobacter ludwigii</i>		
<i>Enterococcus avium</i>	<i>Enterococcus avium</i>	
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	
<i>Enterococcus durans</i>	<i>Enterococcus durans</i>	



<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	
<i>Enterococcus gallinarum</i>	<i>Enterococcus gallinarum</i>	
<i>Enterococcus hirae</i>	<i>Enterococcus hirae</i>	
<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	
<i>Escherichia fergusonii</i>		
<i>Escherichia hermannii</i>	<i>Escherichia hermannii</i>	
<i>Escherichia vulneris</i>	<i>Escherichia vulneris</i>	<i>Pseudescherichia vulneris</i>
<i>Ewingella americana</i>	<i>Ewingella americana</i>	
	<i>Facklamia hominis</i>	
<i>Finegoldia magna</i>	<i>Finegoldia magna</i>	
<i>Fusobacterium mortiferum</i>		
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	<i>Fusobacterium necrophorum</i>	
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	
<i>Fusobacterium periodonticum</i>		
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	
<i>Gemella haemolysans</i>	<i>Gemella haemolysans</i>	
<i>Gemella morbillorum</i>	<i>Gemella morbillorum</i>	
	<i>Gemella sanguinis</i>	
<i>Granulicatella adiacens</i>	<i>Granulicatella adiacens</i>	
	<i>Haemophilus haemolyticus</i>	
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	
<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	<i>Haemophilus parahaemolyticus</i> group	
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	

Vitek MS Prime (bioMerieux)	MALDI Biotyper CA (Bruker)	Nomenclatura actual (2024)
<i>Hafnia alvei</i>	<i>Hafnia alvei</i>	
<i>Hathewayia histolytica</i>		
	<i>Helcococcus kunzii</i>	
<i>Kingella denitrificans</i>	<i>Kingella denitrificans</i>	
<i>Kingella kingae</i>	<i>Kingella kingae</i>	
<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i> / <i>Raoutella</i> <i>ornithinolytica</i>	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
	<i>Klebsiella variicola</i>	



<i>Kluyvera ascorbata</i>		
<i>Kluyvera cryocrescens</i>		
<i>Kluyvera intermedia</i>		
	<i>Kocuria kristinae</i>	<i>Rothia kristinae</i>
<i>Kocuria rhizophila</i>		
	<i>Kytococcus sedentarius</i>	
	<i>Lactobacillus garvieae</i>	<i>Lactococcus garvieae</i>
	<i>Lactobacillus jensenii</i>	
	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i>
<i>Lactococcus garvieae</i>	<i>Lactococcus garvieae</i>	
<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	
<i>Leclercia adecarboxylata</i>	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	
<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	
<i>Lelliottia amnigena</i>		
	<i>Leuconostoc citreum</i>	
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	
	<i>Macrococcus caseolyticus</i>	
<i>Mannheimia haemolytica</i>	<i>Mannheimia haemolytica</i>	
<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	
<i>Mobiluncus curtisii</i>	<i>Mobiluncus curtisii</i>	
<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	
<i>Moraxella lacunata</i>		
<i>Moraxella nonliquefaciens</i>	<i>Moraxella nonliquefaciens</i>	
<i>Moraxella osloensis</i>	<i>Moraxella osloensis</i>	
<i>Morganella morganii</i>	<i>Morganella morganii</i>	
	<i>Myroides odoratimimus</i>	
	<i>Myroides odoratus</i>	

Vitek MS Prime (bioMerieux)	MALDI Biotyper CA (Bruker)	Nomenclatura actual (2024)
<i>Myroides spp</i>		
<i>Neisseria cinerea</i>	<i>Neisseria cinerea</i>	



<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	
<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	
	<i>Neisseria lactamica</i>	
<i>Neisseria mucosa / sicca</i>	<i>Neisseria sicca</i> group	
	<i>Neisseria bacilliformis</i>	
	<i>Neisseria elongata</i>	
	<i>Neisseria flavescens / subflava</i> group	
	<i>Neisseria weaveri</i>	
<i>Nocardia abscessus</i>		
<i>Nocardia asteroides</i>		
<i>Nocardia brasiliensis</i>	<i>Nocardia brasiliensis</i>	
<i>Nocardia cyriacigeorgica</i>	<i>Nocardia cyriacigeorgica</i>	
<i>Nocardia farcinica</i>	<i>Nocardia farcinica</i> group	
<i>Nocardia africana/nova</i>	<i>Nocardia nova</i>	
<i>Nocardia otitidiscaviarum</i>	<i>Nocardia otitidiscaviarum</i>	
<i>Nocardia paucivorans</i>		
<i>Nocardia pseudobrasiliensis</i>		
<i>Nocardia trasvalensis</i>		
<i>Nocardia veterana</i>		
<i>Nocardia wallacei</i>		
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	<i>Ochrobactrum anthropi</i>	<i>Brucella anthropi</i>
<i>Oligella ureolytica</i>	<i>Oligella ureolytica</i>	
<i>Oligella urethralis</i>	<i>Oligella urethralis</i>	
<i>Paeniclostridium sordellii</i>		
<i>Pantoea agglomerans</i>	<i>Pantoea agglomerans</i>	
<i>Pantoea dispersa</i>		
	<i>Parabacteroides distasonis</i>	
	<i>Parabacteroides goldsteinii</i>	
	<i>Parabacteroides johnsonii / merdae</i> group	
<i>Parvimonas micra</i>	<i>Parvimonas micra</i>	
<i>Pasteurella aerogenes</i>		
<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Pasteurella multocida</i>	
<i>Pediococcus acidilactici</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>	
	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	
	<i>Peptoniphilus harei</i> group	
<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i>		



<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	
Vitek MS Prime (bioMérieux)	MALDI Biotyper CA (Bruker)	Nomenclatura actual (2024)
<i>Pluralibacter gergoviae</i>	<i>Pluralibacter gergoviae</i>	
<i>Porphyromonas asaccharolytica / uenonis</i>		
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	
	<i>Porphyromonas somerae</i>	
<i>Prevotella bivia</i>	<i>Prevotella bivia</i>	
<i>Prevotella buccae</i>	<i>Prevotella buccae</i>	
<i>Prevotella denticola</i>	<i>Prevotella denticola</i>	
<i>Prevotella intermedia</i>	<i>Prevotella intermedia</i>	
<i>Prevotella loescheii</i>		
<i>Prevotella melaninogenica</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>	
<i>Prevotella oralis</i>		
<i>Prevotella oris</i>		
<i>Propionibacterium acidipropionici</i>		<i>Acidipropionibacterium acidipropionici</i>
<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Cutibacterium acnes</i>
<i>Propionibacterium avidum</i>		<i>Cutibacterium avidum</i>
<i>Propionibacterium granulosum</i>		<i>Cutibacterium granulosum</i>
<i>Propionibacterium propionicum</i>		<i>Arachnia propionica</i>
<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	
<i>Proteus penneri</i>		
<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Proteus vulgaris</i> group	
<i>Providencia alcalifaciens</i>		
<i>Providencia rettgeri</i>	<i>Providencia rettgeri</i>	
<i>Providencia rustigianii</i>		
<i>Providencia stuartii</i>	<i>Providencia stuartii</i>	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
<i>Pseudomonas alcaligenes</i>		
	<i>Pseudomonas fluorescens</i> group	
<i>Pseudomonas fluorescens</i>		
<i>Pseudomonas luteola</i>		
<i>Pseudomonas mendocina</i>		



INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS
(INEI)



<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	
<i>Pseudomonas putida</i>	<i>Pseudomonas putida</i> group	
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	
<i>Ralstonia pickettii</i>	<i>Ralstonia pickettii</i>	
<i>Raoultella ornithinolytica</i>		<i>Klebsiella ornithinolytica</i>
<i>Raoultella planticola</i>		<i>Klebsiella planticola</i>
<i>Raoultella terrigena</i>		<i>Klebsiella terrigena</i>
<i>Rhizobium radiobacter</i>	<i>Rhizobium radiobacter</i>	<i>Agrobacterium radiobacter</i>
	<i>Rothia aeria</i>	

Vitek MS Prime (bioMérieux)	MALDI Biotyper CA (Bruker)	Nomenclatura actual (2024)
	<i>Rothia dentocariosa</i>	
<i>Rothia mucilaginosa</i>	<i>Rothia mucilaginosa</i>	
<i>Salmonella enterica ssp enterica</i>	<i>Salmonella</i> sp.	
<i>Serratia ficaria</i>		
<i>Serratia fonticola</i>	<i>Serratia fonticola</i>	
<i>Serratia grimesii</i>		
<i>Serratia liquefaciens</i>	<i>Serratia liquefaciens</i>	
<i>Serratia marcescens</i>	<i>Serratia marcescens</i>	
<i>Serratia odorifera</i>	<i>Serratia odorifera</i>	
<i>Serratia plymuthica</i>	<i>Serratia plymuthica</i>	
<i>Serratia proteamaculans</i>		
<i>Serratia quinivorans</i>		
<i>Serratia rubidaea</i>	<i>Serratia rubidaea</i>	
<i>Shewanella putrefaciens</i>		
<i>Sphingobacterium multivorum</i>	<i>Sphingobacterium multivorum</i>	
<i>Sphingobacterium spiritivorum</i>	<i>Sphingobacterium spiritivorum</i>	
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	<i>Sphingomonas paucimobilis</i> group	
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	
<i>Staphylococcus auricularis</i>	<i>Staphylococcus auricularis</i>	
<i>Staphylococcus capitis</i>	<i>Staphylococcus capitis</i>	
	<i>Staphylococcus caprae</i>	
	<i>Staphylococcus carnosus</i>	
<i>Staphylococcus chromogenes</i>		
<i>Staphylococcus cohnii ssp cohnii</i>	<i>Staphylococcus cohnii</i>	



<i>Staphylococcus cohnii ssp urealyticus</i>		
	<i>Staphylococcus delphini</i>	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
	<i>Staphylococcus equorum</i>	
	<i>Staphylococcus felis</i>	
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	
<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>Staphylococcus hominis</i>	
<i>Staphylococcus hyicus</i>		
<i>Staphylococcus intermedius</i>	<i>Staphylococcus intermedius</i>	
<i>Staphylococcus kloosii</i>		
<i>Staphylococcus lentus</i>	<i>Staphylococcus lentus</i>	
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	
	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	
	<i>Staphylococcus pettenkoferi</i>	
	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>		

Vitek MS Prime (bioMerieux)	MALDI Biotyper CA (Bruker)	Nomenclatura actual (2024)
<i>Staphylococcus schleiferi</i>	<i>Staphylococcus schleiferi</i>	
<i>Staphylococcus sciuri</i>	<i>Staphylococcus sciuri</i>	
<i>Staphylococcus simulans</i>	<i>Staphylococcus simulans</i>	
	<i>Staphylococcus vitulinus</i>	
<i>Staphylococcus warneri</i>	<i>Staphylococcus warneri</i>	
<i>Staphylococcus xylosum</i>	<i>Staphylococcus xylosum</i>	
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	
<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	
<i>Streptococcus alactolyticus</i>	<i>Streptococcus alactolyticus</i>	
<i>Streptococcus anginosus</i>	<i>Streptococcus anginosus</i>	
<i>Streptococcus canis</i>	<i>Streptococcus canis</i>	
<i>Streptococcus constellatus</i>	<i>Streptococcus constellatus</i>	
<i>Streptococcus cristatus</i>		
<i>Streptococcus dysgalactiae ssp dysgalactiae</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	
<i>Streptococcus dysgalactiae ssp equisimilis</i>		
<i>Streptococcus equi ssp equi</i>	<i>Streptococcus equi</i>	



<i>Streptococcus equi ssp zooepidemicus</i>		
<i>Streptococcus equi ssp ruminantium</i>		
<i>Streptococcus equinus</i>		
<i>Streptococcus gallolyticus ssp gallolyticus</i>	<i>Streptococcus gallolyticus</i>	
<i>Streptococcus gallolyticus ssp pasteurianus</i>		
<i>Streptococcus gordonii</i>	<i>Streptococcus gordonii</i>	
<i>Streptococcus infantarius ssp coli (lutetiensis)</i>	<i>Streptococcus lutetiensis</i>	
<i>Streptococcus infantarius ssp infantarius</i>		
<i>Streptococcus intermedius</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>	
<i>Streptococcus mitis / oralis</i>	<i>Streptococcus mitis / oralis</i> group	
<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Streptococcus mutans</i>	
<i>Streptococcus parasanguinis</i>	<i>Streptococcus parasanguinis</i>	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	
<i>Streptococcus pseudoporcinus</i>		
<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>	
<i>Streptococcus salivarius ssp salivarius</i>	<i>Streptococcus salivarius / vestibularis</i> group	
<i>Streptococcus sanguinis</i>	<i>Streptococcus sanguinis</i>	

Vitek MS Prime (bioMerieux)	MALDI Biotyper CA (Bruker)	Nomenclatura actual (2024)
<i>Streptococcus sobrinus</i>	<i>Streptococcus sobrinus</i>	
<i>Streptococcus suis</i>		
	<i>Streptococcus thermophilus</i>	
<i>Streptococcus uberis</i>		
<i>Streptococcus vestibularis</i>		
	<i>Sutterella wadsworthensis</i>	
<i>Tannerella forsythia</i>		
	<i>Trueperella bernardiae</i>	
	<i>Turicella otitidis</i>	<i>Corynebacterium otitidis</i>
	<i>Vagococcus fluvialis</i>	
<i>Veillonella dispar</i>		
	<i>Veillonella parvula</i> group	



<i>Vibrio alginolyticus</i>		
<i>Vibrio cholerae</i>		
<i>Vibrio fluvialis</i>		
<i>Vibrio metschnikovii</i>		
<i>Vibrio mimicus</i>		
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	
<i>Vibrio vulnificus</i>	<i>Vibrio vulnificus</i>	
	<i>Weeksella virosa</i>	
<i>Yersinia aldovae</i>		
<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>	
<i>Yersinia frederiksenii</i>	<i>Yersinia frederiksenii</i>	
<i>Yersinia intermedia</i>	<i>Yersinia intermedia</i>	
<i>Yersinia kristensenii</i>	<i>Yersinia kristensenii</i>	
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	
<i>Yersinia ruckeri</i>		

Anexo II

Definiciones

IVD (In Vitro Diagnostic)

Es una categoría que refiere a los productos destinados al diagnóstico clínico de pacientes. Son dispositivos, equipos, reactivos que han sido validados y aprobados para su uso en diagnósticos médicos, y requieren certificaciones regulatorias como CE y FDA. Estos productos deben cumplir estrictos controles de calidad y validación, ya que sus resultados son fundamentales para la toma de decisiones médicas y pueden ser incluidos en los historiales clínicos. Además, cuentan con indicaciones de uso específicas y aprobadas y requieren estudios clínicos que demuestren su eficacia para garantizar su seguridad y rendimiento en el entorno médico.

RUO (Research Use Only)

Son productos que están destinados exclusivamente para fines de investigación y no han sido validados para el diagnóstico clínico, lo que significa que no requieren aprobaciones regulatorias tan estrictas. Estos productos no pueden ser utilizados para diagnosticar pacientes. Los métodos de identificación bacteriana



RUO incluyen sistemas de espectrometría de masas como MALDI-TOF, métodos moleculares como PCR experimental y sistemas bioquímicos en fase de investigación. Aunque estos métodos pueden ser útiles para estudios, desarrollo de técnicas y validación de protocolos, sus resultados no pueden utilizarse para tomar decisiones clínicas ni diagnósticas en pacientes. Son generalmente más económicos que sus contrapartes IVD, pero tienen menos controles de calidad y no cuentan con las validaciones y aprobaciones regulatorias necesarias para uso clínico.

Marcado CE (Conformité Européenne)

Es una marca que indica que un producto cumple con los requisitos de seguridad, salud y protección ambiental del Espacio Económico Europeo. Para dispositivos médicos, significa que cumplen con las regulaciones europeas MDR (*Medical Device Regulation*) o IVDR (*In Vitro Diagnostic Regulation*). Es obligatorio para comercializar dispositivos médicos en la Unión Europea. Para obtener el marcado CE, los fabricantes deben realizar una evaluación de conformidad, que puede requerir la intervención de un organismo notificado dependiendo de la clase de riesgo del dispositivo. La documentación técnica, el sistema de gestión de calidad y los datos clínicos son elementos cruciales para demostrar el cumplimiento con los requisitos europeos.

Autorización FDA 510(k)

La autorización 510(k) es un proceso de la FDA de Estados Unidos que permite comercializar dispositivos médicos demostrando que son "sustancialmente equivalentes" a un dispositivo legal ya existente en el mercado estadounidense. Este proceso requiere una extensa documentación que incluye datos de seguridad y eficacia, pruebas de rendimiento, comparaciones con el dispositivo ya existente, y documentación sobre el diseño y fabricación. A diferencia del marcado CE, el 510(k) siempre requiere una revisión y autorización explícita por parte de la FDA antes de poder comercializar el dispositivo en Estados Unidos.

Pruebas de diagnóstico in house

Son los métodos que han sido diseñados y desarrollados en un laboratorio y no son distribuidos o vendidos a cualquier otro laboratorio. Los ensayos *in house* se usan sólo cuando no hay otros métodos disponibles o debido a elevados costos de los sistemas comerciales.

Pruebas de diagnóstico no autorizadas

Son aquellas que, aunque cumplen con la Directiva IVD, se utilizan fuera de las especificaciones establecidas por el fabricante. Esto puede incluir modificaciones significativas, como el cambio de reactivos, la alteración de procedimientos, el uso de muestras diferentes a las indicadas y adaptaciones para propósitos clínicos no previstos. Otro ejemplo incluye pruebas comerciales que no son IVD, sino que se venden para uso de investigación (RUO) y los resultados se utilizan para respaldar decisiones clínicas.

Antes de implementar estas modificaciones en la rutina del laboratorio, es fundamental validar cada cambio para asegurar resultados confiables. Es importante resaltar que los productos RUO tienen limitaciones específicas y deben utilizarse estrictamente de acuerdo con las pautas del fabricante. La documentación de las validaciones de pruebas modificadas debe seguir un proceso riguroso para asegurar la trazabilidad y la confiabilidad de los resultados. Esto comienza con el desarrollo de un plan de validación que defina el objetivo, el alcance y los métodos a utilizar, seguido de la creación de protocolos específicos que detallen los procedimientos a seguir. Es esencial registrar sistemáticamente todos los datos, incluyendo observaciones y anomalías, y realizar un análisis comparativo con los criterios de aceptación establecidos. Posteriormente, se elabora un informe final que resume el proceso, los resultados y las conclusiones, el cual debe ser revisado y



aprobado por personal competente. Finalmente, toda la documentación relacionada debe archivar de manera accesible y segura para futuras auditorías, manteniéndose actualizada en caso de nuevas modificaciones o cambios en las condiciones de uso. Este enfoque sistemático garantiza la validez de las pruebas y facilita la conformidad con las normativas aplicables.

Pruebas diagnósticas comerciales

La marca CE en un producto indica que el fabricante o importador de ese producto afirma que cumple con la legislación pertinente de la UE y que el producto puede venderse en cualquier lugar del Espacio Económico Europeo. La aprobación de la FDA significa que el producto está aprobado para su uso en todas partes del mundo. El ANMAT en Argentina acepta los productos con certificado CE y FDA. La aprobación del FDA no garantiza el desempeño del método. Cuando se implementa un método aprobado por FDA, es recomendable que el laboratorio realice una verificación y documente los resultados. Para este tipo de verificación, se recomienda una población de al menos 50 especímenes negativos y 20 positivos.

Verificación según ISO 15189:2012

La verificación es el proceso que confirma, mediante evidencia objetiva, el cumplimiento de requisitos específicos de un producto (kit comercial, sistema o equipo) con una norma o especificación establecida. Se requiere en dos escenarios principales:

- Implementación de nuevos métodos/equipos comerciales validados
- Modificación y revalidación de métodos previamente validados

El proceso incluye la evaluación de parámetros de desempeño como: Exactitud, precisión, linealidad y otros atributos según el método/equipo

La verificación es un proceso continuo donde el laboratorio demuestra su capacidad para obtener resultados aceptables con el método o sistema evaluado. El informe de verificación debe documentar todos los parámetros evaluados y resultados obtenidos.

Validación según ISO 15189:2012

La validación tiene como objetivo proporcionar evidencia documentada de que una prueba de diagnóstico opera dentro de las especificaciones requeridas y es adecuada para su propósito. Este proceso puede incluir experimentos diseñados para evaluar parámetros clave como precisión, sensibilidad, especificidad, confiabilidad, repetitividad, reproducibilidad e incertidumbre de medición. La validación puede ser exhaustiva, como en el caso de métodos *in-house* recientemente desarrollados, o de alcance limitado, como para métodos comerciales ya en uso que han sufrido modificaciones. Para los métodos existentes sin una validación específica, es crucial ofrecer documentación que respalde su uso. Generalmente, esto se logra a través de un archivo que recopile evidencia histórica, como resultados de comparaciones, estudios previos, artículos publicados y resultados de controles de calidad externos. Además, los registros del libro de trabajo pueden utilizarse como referencias cruzadas en el informe de validación, si es pertinente. Los métodos validados no necesitan ninguna validación adicional. La aptitud continua para el propósito se monitorea a través del sistema de aseguramiento de la calidad del laboratorio, que puede incluir evaluación de la competencia del personal, control de calidad, ensayos de aptitud, etc.

Evaluación

La evaluación es un término genérico que se utiliza para describir la medición del desempeño de un método. Este es un proceso sistemático y extenso que compara diferentes sistemas / métodos de prueba diseñados para realizar la misma determinación. Los ejemplos de evaluaciones dentro de la microbiología incluyen la



INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS
(INEI)



comparación de diferentes métodos diseñados para detectar el mismo marcador, la comparación de diferentes medios de cultivo para aislar el mismo organismo, o la comparación de diferentes equipos con el mismo propósito. Cuando dos equipos tienen características de rendimiento equivalentes, el preferido es aquel que es más fácil de usar, más barato, más rápido o requiere una muestra más fácil de obtener.



INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS
(INEI)



Anexo III

Aislados clínicos para verificación de identificación bacteriana según CLSI M58, 2017.



Enterobacteriaceae y no Enterobacteriaceae Gram negativas	Número de aislados a evaluar
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	(0-3)
<i>Acinetobacter baumannii</i> (complejo)	(1-3)
<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>	(1-3)
<i>Citrobacter freundii</i> (complejo)	(1-3)
<i>Citrobacter koseri</i>	(0-3)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	(0-3)
<i>Enterobacter cloacae</i> (complejo)	(1-3)
<i>Escherichia coli</i>	(3-5)
<i>Escherichia fergusonii</i>	(0-3)
<i>Ewingella americana</i>	(0-3)
<i>Hafnia alvei</i>	(0-3)
<i>Leclercia adecarboxylata</i>	(0-3)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	(1-3)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	(3-5)
<i>Morganella morganii</i>	(1-3)
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	(0-3)
<i>Pantoea agglomerans</i>	(0-3)
<i>Pasteurella multocida</i>	(0-3)
<i>Proteus mirabilis</i>	(3-5)
<i>Proteus vulgaris</i>	(0-3)
<i>Providencia rettgeri</i>	(0-3)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(3-5)
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	(0-3)
<i>Pseudomonas putida</i>	(0-3)
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	(0-3)
<i>Ralstonia pickettii</i>	(0-3)
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	(0-3)
<i>Salmonella enterica</i>	(1-3)
<i>Serratia liquefaciens</i>	(0-3)
<i>Serratia marcescens</i>	(1-3)
<i>Sphingobacterium multivorum</i>	(0-3)
<i>Vibrio cholerae</i>	(0-3)
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	(0-3)
<i>Yersinia enterocolitica</i>	(0-3)
<i>Yersinia frederiksenii</i>	(0-3)
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	(0-3)



Organismos fastidiosos Gram negativos	Número de aislados a evaluar
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	(0-3)
<i>Aggregatibacter aphrophilus</i>	(1-3)
<i>Aggregatibacter segnis</i>	(0-3)
<i>Campylobacter coli</i>	(1-3)
<i>Campylobacter jejuni</i>	(0-3)
<i>Cardiobacterium hominis</i>	(0-3)
<i>Eikenella corrodens</i>	(1-3)
<i>Gardnerella vaginalis</i>	(1-3)
<i>Haemophilus haemolyticus</i>	(1-3)
<i>Haemophilus influenzae</i>	(1-3)
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	(0-3)
<i>Kingella denitrificans</i>	(0-3)
<i>Kingella kingae</i>	(1-3)
<i>Moraxella catarrhalis</i>	(1-3)
<i>Neisseria cinerea</i>	(1-3)
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	(1-3)
<i>Neisseria lactamica</i>	(1-3)
<i>Neisseria meningitidis</i>	(1-3)
<i>Oligella urethralis</i>	(1-3)
<i>Suttonella indologenes</i>	(0-3)

Organismos Gram positivos aerobios	Número de aislados a evaluar
<i>Abiotrophia defectiva</i>	(0-3)
<i>Aerococcus viridans</i>	(1-3)
<i>Corynebacterium amycolatum</i>	(0-3)
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	(1-3)
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	(1-3)
<i>Corynebacterium minutissimum</i>	(0-3)
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	(0-3)
<i>Corynebacterium striatum</i>	(0-3)
<i>Corynebacterium ulcerans</i>	(0-3)
<i>Corynebacterium urealyticum</i>	(0-3)
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	(0-3)
<i>Enterococcus durans</i>	(0-3)
<i>Enterococcus faecalis</i>	(3-5)
<i>Enterococcus faecium</i>	(3-5)
<i>Gemella morbillorum</i>	(0-3)



Organismos Gram positivos aerobios	Número de aislados a evaluar
<i>Granulicatella adiacens</i>	(0-3)
<i>Kocuria rosea</i>	(0-3)
<i>Lactococcus lactis</i>	(0-3)
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	(0-3)
<i>Micrococcus luteus</i>	(0-3)
<i>Pediococcus acidilactici</i>	(0-3)
<i>Rothia mucilaginosa</i>	(1-3)
<i>Staphylococcus aureus</i>	(3-5)
<i>Staphylococcus capitis</i>	(0-3)
<i>Staphylococcus cohnii</i>	(0-3)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	(3-5)
<i>Staphylococcus hominis</i>	(1-3)
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	(1-3)
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	(1-3)
<i>Staphylococcus warneri</i>	(0-3)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	(3-5)
<i>Streptococcus constellatus</i>	(0-3)
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	(1-3)
<i>Streptococcus gallolyticus</i>	(0-3)
<i>Streptococcus infantarius</i>	(0-3)
<i>Streptococcus milleri/anginosus</i>	(1-3)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	(3-5)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	(3-5)



Anexo IV

Genes de ARN ribosómico y su importancia en la taxonomía procariota

Los genes de ARN ribosómico (rARN), que incluyen el 5S, 16S y 23S, junto con sus regiones intergénicas, son elementos genéticos fundamentales para la taxonomía procariota debido a sus características únicas y ventajosas: están universalmente presentes en todos los organismos, muestran una notable resistencia a la transferencia horizontal de genes, y poseen una estructura peculiar que combina regiones altamente conservadas con segmentos variables. Estas propiedades hacen que el gen 16S rADN sea particularmente valioso y se haya convertido en la herramienta estándar para la clasificación taxonómica e identificación de bacterias, siendo su estructura que alterna entre secuencias muy conservadas y variables, especialmente útil para establecer relaciones filogenéticas precisas.

Secuenciación del gen 16S rADN y su aplicación en la identificación bacteriana

La secuenciación de los primeros 500 pares de bases (pb) del gen 16S rADN generalmente proporciona suficiente información para una identificación bacteriana confiable, lo que explica por qué esta región está ampliamente representada en las bases de datos públicas. Sin embargo, para lograr una discriminación más precisa entre taxones o cepas específicas, puede ser necesario extender el análisis hasta 1000 pb o incluso abarcar la totalidad de la región de 1540 pb, permitiendo así una caracterización taxonómica más detallada y precisa que resulta especialmente relevante para ciertos microorganismos que requieren una diferenciación más exhaustiva.

Marcadores genéticos alternativos para la identificación taxonómica

En ciertos géneros o grupos microbianos donde la secuencia del ARNr 16S muestra una homología completa entre especies, se hace necesario recurrir a marcadores genéticos alternativos para la identificación taxonómica, tales como *rpoB*, *recA*, *tuf*, *gyrA*, la DNA girasa (*gyrB*) y la familia de proteínas *cpn60*, que se caracterizan por presentar una estructura molecular que combina regiones funcionalmente conservadas con segmentos de alta variabilidad, permitiendo así la diferenciación entre especies cercanamente relacionadas. No obstante, es importante considerar que los cebadores para estos marcadores alternativos no poseen la universalidad del 16S rRNA y requieren una cuidadosa selección para asegurar la amplificación específica en los grupos microbianos de interés, además de que las bases de datos disponibles para estos marcadores suelen ser menos robustas que las del 16S rRNA, lo que puede complicar la interpretación de los resultados.

Limitaciones de las bases de datos de secuencias públicas

Las bases de datos de secuencias públicas, aunque son herramientas valiosas para la identificación microbiana, presentan limitaciones significativas que pueden afectar la precisión de los análisis taxonómicos. Entre sus principales restricciones se encuentran la presencia de secuencias mal anotadas o con errores de clasificación, la falta de estandarización en la nomenclatura, la inclusión de secuencias de baja calidad o incompletas, y la representación desigual de diferentes grupos taxonómicos, donde algunos están



sobrerrepresentados mientras otros carecen de suficiente cobertura. Además, la ausencia de un proceso riguroso de curación en algunas bases de datos públicas puede llevar a la perpetuación de errores en la identificación de especies, y la falta de información contextual sobre el origen y la validación de las secuencias depositadas puede dificultar la evaluación de su confiabilidad para estudios taxonómicos precisos.

El CLSI, en su documento M18 2nd Ed *“Criterios interpretativos para la identificación de bacterias y hongos mediante secuenciación dirigida de ADN”*, proporciona información y directrices para la clasificación microbiana mediante secuenciación de ADN dirigido, con especial énfasis en la interpretación y el informe de los resultados.

A continuación, se detalla el nivel de resolución del gen 16SrADN para los grupos bacterianos de importancia clínica. Se sugiere a aquellos laboratorios que incorporen la secuenciación del 16SrADN con fines taxonómicos, ya sea por secuenciación por el método de Sanger o secuenciación del genoma completo, que lean detalladamente las limitaciones y recomendaciones del documento.



INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS
(INEI)



Resolución del gen 16S rRNA para la Identificación de Diferentes Grupos Bacterianos



Grupo Bacteriano	Resolución del Gen 16S rRNA
Cocos Gram Positivos	La resolución varía según el género y la especie. Algunos géneros, como <i>Staphylococcus</i> y <i>Streptococcus</i> , pueden requerir una secuencia más larga para una identificación precisa a nivel de especie. Otros géneros pueden requerir genes alternativos como <i>sodA</i>
Enterobacterias	La resolución varía según el género. En general el 16SrADN no es una diana útil ya que puede no resolver a nivel de género. Algunos géneros, como <i>Escherichia</i> , <i>Shigella</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Raoultella</i> y <i>Cronobacter</i> , están estrechamente relacionados y pueden ser difíciles de diferenciar incluso con una secuencia más larga del gen 16S rRNA.
Bacilos Gram Negativos No Fermentadores de Glucosa	La resolución varía según el género. Algunos géneros, como <i>Pseudomonas</i> y <i>Acinetobacter</i> , pueden ser identificados a nivel de género, pero la resolución a nivel de especie puede ser muy limitada.
Cocobacilos Gram Negativos Fastidiosos	La resolución varía según el género. Algunos géneros, como <i>Haemophilus</i> y <i>Aggregatibacter</i> , pueden ser identificados a nivel de especie, mientras que otros, como <i>Cardiobacterium</i> y <i>Eikenella</i> , pueden tener una resolución limitada.
Anaerobios Gram Positivos	La resolución varía según el género y la especie. Muchos anaerobios gram positivos pueden ser identificados a nivel de especie con el gen 16S rRNA.
Anaerobios Gram Negativos	La resolución varía según el género y la especie. Algunos géneros, como <i>Bacteroides</i> y <i>Prevotella</i> , pueden ser identificados a nivel de especie, mientras que otros, como <i>Fusobacterium</i> y <i>Leptotrichia</i> , pueden tener una resolución limitada.
Bacilos Gram Positivos Corineformes	La resolución varía según el género y la especie. Algunos géneros, como <i>Corynebacterium</i> , pueden ser identificados a nivel de algunas especies, mientras que otros, como <i>Arthrobacter</i> y <i>Brevibacterium</i> , solo pueden ser identificados a nivel género.
Actinomyces Aerobios	La resolución varía según el género y la especie. Algunos géneros, como <i>Nocardia</i> , pueden ser identificados a nivel de algunas especies, mientras que otras especies requerirán más de un gen alternativo. <i>Streptomyces</i> y <i>Actinomadura</i> , solo a nivel de género.



Micobacterias

El gen 16S rRNA puede ser utilizado para identificar micobacterias a nivel de complejo, como el complejo *Mycobacterium tuberculosis*. Sin embargo, la resolución a nivel de especie puede ser limitada para algunos grupos de micobacterias.