

Red Nacional de Espectrometría de Masas aplicada al Laboratorio de Microbiología Clínica (RENAEM)

Informe período 2015-2017

La identificación microbiológica por espectrometría de masas (EM) ha revolucionado el campo de la microbiología clínica. La tecnología MALDI-TOF (*Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry*) ha sido desarrollada para la aplicación en el laboratorio clínico, por las empresas Shimadzu (BioMerieux) y Bruker (Becton Dickinson). Ambas plataformas han sido aprobadas por *Food and Drug Administration, USA (FDA)* para su utilización en diagnóstico microbiológico clínico en humanos. Sin embargo, esta validación ha incluido solo algunas especies de los grupos taxonómicos clínicamente más relevantes.

La creación de la RENAEM fue propuesta en 2015 como una Red Nacional que incluiría a laboratorios de microbiología públicos y privados que han implementado la espectrometría de masas como herramienta de diagnóstico microbiológico. RENAEM ha crecido sumando nuevos participantes e incorporando nuevos nodos de referencia para diversas áreas temáticas durante el período 2015-2017. Esto está permitiendo la consolidación de RENAEM como una estrategia innovadora con visión de salud pública que facilita la transferencia de las bases de datos complementarias desarrolladas y la sociabilización de la tecnología, para generar homogeneidad y excelencia en diagnósticos oportunos y confiables, y así mejorar la eficiencia y efectividad del sistema de salud. La estructura actual de la RENAEM se detalla en el cuadro 1.

Cuadro 1. Estructura RENAEM 2017

Coordinadores		
Prof. Dr. Carlos Vay. LNR- Hospital de Clínicas “José San Martín”. Universidad de Buenos Aires		
Dra. Mónica Prieto LNR-Servicio Bacteriología Especial, INEI-ANLIS “Dr Carlos Malbrán”		
Nodos de referencia/Referente		Responsables
Departamento Bacteriología INEI-ANLIS Dra. Beatriz López	LNR-ITS	Dra. Patricia Galarza/ Dra. Claudia Oviedo
	LNR-Brucelosis	Dra. Gabriela Escobar
	LNR-Micobacterias	Dr. Norberto Simboli / Dra. Roxana Paul
	LNR-Enterobacterias	Dra. María Rosa Viñas/ Dra. M. Inés Caffer
	LNR-Botulismo	Dra. María Isabel Faracce
	LR- Bacteriología Especial	Dra. Florencia Rocca/ Dra. Lucía Cipolla
	Análisis Bioestadísticos	Dr. Mauricio Santos / Dr. Jonathan Czintgraff Dra. Florencia Rocca / Dra. Lucía Cipolla
Departamento Micología INEI- ANLIS Dra. Graciela Davel	LNR- Levaduras	Dra. Constanza Taverna
Hospital de Clínicas José de San Martín. FFYB Universidad de Buenos Aires Prof. Dr. Carlos Vay		Dra. Marisa Almuzara / Dra. Claudia Barberis
CEMAR Rosario Dr. Eduardo Anchart		Dra. Julieta Valles
Hospital Alemán. CABA		Dra. Liliana F. Caniggia
Nodos colaboradores de referencia		
Institución	Responsable	Plataforma
Hospital Fernández. GCABA	Dra. Liliana Guelfand	Bruker
CEMIC, CABA	Dra. Jorgelina Smayevsky	Bruker
Nodos participantes		
Institución	Responsable	Plataforma
Hospital Regional Ushuaia	Dr. Manuel Boutueira	Bruker
Hospital Privado Córdoba	Dr. Mario Vilaró	Bruker
Hospital El Carmen- Mendoza	Dra. Raquel Barzan de Impagliaso	Bruker
Hospital Garrahan	Dra. Claudia Fernández/ Dra. Diana Viale	Vitek-MS
Hospital Italiano. CABA	Dra. Graciela Greco /Dra. Mariangeles Visus	Vitek-MS
Hospital Ricardo Gutiérrez, GCBA	Dra. Miriam Vazquez	Vitek-MS
Hospital El Cruce, Bs As	Dra. Miriam Blanco	Vitek-MS

Desde la propuesta de creación de la RENAEM, se han llevado a cabo varios encuentros (cuadro 2) que han permitido establecer un intercambio de conocimiento y una dinámica de trabajo colaborativo entre los participantes. Durante dichos encuentros se han establecido metas a corto y mediano plazo. El monitoreo del cumplimiento de dichas metas se muestra en el cuadro 3.

Cuadro 2: Encuentros RENAEM

Encuentro	Lugar	Fecha
1º Taller “Creación de la Red Nacional de Espectrometría de Masas aplicada al Laboratorio de Microbiología Clínica (RENAEM)”	ANLIS Dr. Carlos G Malbrán	22 de julio de 2015.
II Taller Internacional de identificación microbiológica por Espectrometría de Masas	ANLIS Dr. Carlos G Malbrán	14 y 15 de julio de 2016.
Incorporación a la Red Nacional de identificación por Espectrometría de Masas aplicada al Laboratorio de Microbiología Clínica” VITEK-MS	ANLIS Dr. Carlos G Malbrán	6 de setiembre de 2016.
III Taller Reunión RENAEM	CAM 2016 Rosario, Argentina	30 de setiembre de 2016
Incorporación a la Red Nacional de identificación por Espectrometría de Masas aplicada al Laboratorio de Microbiología Clínica” VITEK-MS	ANLIS Dr. Carlos G Malbrán	6 de setiembre de 2016
IV Taller de Red Nacional de identificación microbiológica por Espectrometría de Masas (RENAEM)	ANLIS Dr. Carlos G Malbrán	23 de junio de 2017

Cuadro 3. Monitoreo de metas periodo 2015-2017

Meta	Producto esperado /Responsables	Estado de avance
Evaluación identificación de bacterias y hongos de importancia clínica (Bruker)	Divulgación en encuentros/ BE, HC-UBA; Departamentos de Bacteriología y Micología de INEI-ANLIS	Terminado
Creación, evaluación y transferencia de base de datos del complejo B. cepacia	Base de datos de ppl /BE, HC-UBA	Terminado Transferido
Creación, evaluación y transferencia de base de datos <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Base de datos de ppl/ITS	Terminado Transferido
Creación, evaluación y transferencia de base de datos Micobacterias atípicas	Base de datos de ppl/MB	Terminado Transferido
Creación, evaluación y transferencia de base de datos Levaduras de importancia clínica	Base de datos de ppl/MIC	Terminado Transferido
Creación, evaluación y transferencia de base de datos <i>Brucella spp</i>	Base de datos de ppl/Bru	En proceso
Creación, evaluación y transferencia de base de datos <i>Vibrio cholerae</i>	Base de datos de ppl/ETB	En proceso
Creación, evaluación y transferencia de base de datos <i>Nocardia spp</i>	Base de datos de ppl/BE	En proceso
Creación, evaluación y transferencia de base de datos de estafilococos coagulasa negativos	Base de datos de ppl/CEMAR	En proceso
Creación, evaluación y transferencia de base de datos <i>Achromobacter spp</i>	Base de datos de ppl/HC-UBA	En proceso
Creación, evaluación y transferencia de base de datos Anaerobios	Base de datos de ppl/HA	En proceso
Elaboración de procedimientos para preparación de reactivos, mantenimiento y utilización de Microflex LT, Bruker y software asociado	Guía /BE	Terminado transferido
Evaluación de procedimientos para identificación directa a partir de hemocultivos	Protocolos /HF, CEMIC	Terminado transferido
Evaluación y comparación de softwares disponibles para pre-pocesamiento y análisis de espectros MALDI-TOF	Documento con resultados de evaluación .Taller / LR Bioestadística	Terminado
Identificación de aislamientos no	Informe (Cuadro 4) /BE	Terminado

identificados por MALDI-TOF, Bruker derivados por la red		
Creación Colección de Cultivos -MALDITOF	Vial criopreservado por duplicado N° acceso genbank Catálogo	En proceso
Evaluación identificación de bacterias y hongos de importancia clínica (Vitek MS)	Divulgación en encuentros/ Departamentos de Bacteriología y Micología de INEI-ANLIS	Comienza en 2018

Ppl: perfiles proteicos de aislamientos locales identificados por método de referencia; **BE:** servicio Bacteriología Especial, INEI-ANLIS; **HC-UBA:** Hospital de Clínicas, FFYB, UBA; **ITS:** servicio infecciones de transmisión sexual, INEI-ANLIS; **MB:** servicio Micobacterias, INEI-ANLIS; **MIC:** Departamento Micología, INEI-ANLIS; **Bru:** servicio Brucelosis, INEI-ANLIS; **ETB:** servicio Enterobacterias, INEI-ANLIS; **HA:** Hospital Alemán; **HF:** Hospital Fernández;

Los aislamientos derivados durante el período 2016-2017 por integrantes de la RENAEM que no han podido ser identificados por MALDITOF se detallan en el cuadro 4. La identificación de referencia fue llevada a cabo con un enfoque taxonómico polifásico que incluye la secuenciación del gen 16SrARN de todos los aislamientos, y para grupos taxonómicos particulares: pruebas de asimilación de hidratos de carbono, pruebas enzimáticas, sensibilidad a los antimicrobianos, secuenciación parcial de los genes *secA*, *gyrB*, *hsp 65*, *recA*, *ribC*. Todos los aislamientos han sido preservados y están a disposición de los integrantes de RENAEM. La asignación de número de acceso al GenBank de las secuencias obtenidas se encuentra demorada y en proceso.

Cuadro 4. Aislamientos derivados por RENAEM

Nº CCBE	RENAEM	NI MALDI TOF	MSP en BD	Identificación de referencia
334/16	SI	NI	NO	<i>Gordonia polyisoprenivorans</i>
21/16	SI	NI	SI	<i>Prevotella</i> spp
333/16	SI	NI	NO	<i>Roseomonas</i> spp
446/16	SI VITEK MS	NI	SI	<i>Weissella confusa</i>
463/16	SI	NI	SI (1)	<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>
509/16	SI	NI	SI (1)	<i>Corynebacterium pyruviciproducens</i>
556/16	SI	NI	SI (1)	<i>Corynebacterium pyruviciproducens</i>
208/17	SI	NI	NO	<i>Nocardiosis exhalans</i>
260/17	SI VITEK MS	NI	SI	<i>Exiguobacterium</i> sp
265/17	SI	NI	NO	<i>Tepidiphilus succinatimandens</i>
312/17	SI	NI	NO	<i>Cellulomonas turbata</i>

375/17	SI VITEK MS	NI	NO	<i>Sporosarcina</i> spp
550-17	si VITEK MS	NI	NO	<i>Luteimonas</i> sp

Nº CCBE : Número ingreso Colección de Cultivos CCBE; **NI**: no identifica; **MSP en BD**: Presencia de perfil proteico de referencia en base datos Biotyper 3.1



Dr. Carlos Vay
Coord. Red RENAEM
Hospital de Clínicas José de San Martín
Facultad de Farmacia y Bioquímica UBA



Dra. Mónica Prieto
Coord. Red RENAEM
Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas
ANLIS "Dr. C Malbrán"