



Boletín Informativo de la RENAEM

Julio 2025



Editorial

Patógenos emergentes.

Dr. Mario Vilaró. Laboratorio de Microbiología, Hospital Privado Universitario de Córdoba.

Informe técnico

Evaluación de desempeño del Módulo MBT HT LIPIDART para la detección de resistencia a colistín en *Escherichia coli*.

Dr. Ezequiel Albornóz, Dra. Alejandra Corso. Servicio Antimicrobianos, Departamento Bacteriología, INEI ANLIS Malbrán.

Caso Clínico

Identificación errónea mediante MALDI-TOF MS y su impacto clínico: *Neisseria shayeganii*

Dra. Claudia Barberis, Prof. Dr. Carlos Vay. Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Hospital de Clínicas José de San Martín, Departamento de Bioquímica Clínica, Cátedra de Microbiología Clínica, Buenos Aires, Argentina.

Novedades

XI Taller ReNaEM



EDITORIAL

Patógenos emergentes

Dr. Mario Vilaró. Laboratorio de Microbiología, Hospital Privado Universitario de Córdoba.

Los patógenos emergentes se definen como agentes infecciosos que han aparecido recientemente dentro de una población o que han existido anteriormente, pero que están aumentando rápidamente en incidencia, virulencia, resistencia o distribución geográfica ⁽¹⁾.

Se clasifican en: verdaderamente emergentes, re emergentes, intencionalmente emergentes y accidentalmente emergentes ⁽²⁾.

También pueden describirse como los microorganismos causantes de enfermedades infecciosas cuya incidencia está aumentando después de su aparición en una nueva población huésped o en una población huésped existente debido a cambios a largo plazo en su epidemiología.

En el año 2018 la OMS definió nueve infecciones como enfermedades de actuación prioritaria por su capacidad de producir una emergencia de salud pública y por la ausencia de un tratamiento o vacuna eficaces frente a ellas: la fiebre hemorrágica de Crimea-Congo, la enfermedad por virus del Ébola y virus Marburg, la fiebre de Lassa, el síndrome respiratorio agudo grave por coronavirus y el síndrome respiratorio de Oriente Medio por coronavirus, la enfermedad por virus Nipah, la fiebre del Valle del Rift y el Zika; y añadió una décima, la llamada enfermedad X, o aquella por venir, que terminó siendo el SARS-CoV-2 ⁽³⁾.

Aunque la mayoría de las publicaciones asocian a los patógenos emergentes principalmente con virus, las bacterias, hongos y parásitos no quedan relegados en este proceso evolutivo.

En el año 2024 la Organización Mundial de la Salud publicó un listado actualizado de patógenos emergentes y sus posibles implicancias en la salud mundial. Si bien es cierto que la publicación apunta a patógenos que podrían convertirse en pandemia, la realidad es que cualquier laboratorio de microbiología debe afrontar diariamente el desafío de jerarquizar como clínicamente significativos a organismos raros o poco frecuentes que, sin ser necesariamente potenciales causantes de brotes epidémicos, son aislamientos que deben ser evaluados dentro de cada contexto clínico en particular.

Los tres aspectos principales para comprender la dinámica de la aparición de nuevas enfermedades bacterianas son: el desarrollo de nuevas herramientas de diagnóstico, el aumento de la exposición humana a patógenos bacterianos y la aparición de cepas más virulentas que causan infecciones oportunistas ⁽⁴⁾.

A diferencia de los virus, las bacterias poseen un genoma más estable y, por lo tanto, la divergencia bacteriana después de mutaciones aleatorias es menor. Sin embargo, la presión de selección debido al uso de antibacterianos, altera este paradigma. La interpretación de este fenómeno debe ser contextualizada dentro de una realidad que es el resultado de la interacción entre factores dependientes del microorganismo, del hospedador y del ambiente.

Ante la recuperación de una bacteria rara a partir de una muestra clínica, la pregunta a formularse es si nos enfrentamos a nuevas especies y cepas patógenas, o simplemente se trata de interpretar a la infinita biodiversidad del mundo procariota. Al mismo tiempo, la duda se traslada a discernir si esos microorganismos han estado presentes durante mucho tiempo en nuestro entorno, pero a los que los humanos solo han estado expuestos recientemente o a aquellos organismos que no habíamos podido detectar hasta ahora con los métodos de



identificación disponibles. Y no se trata de un mero cuestionamiento de índole teórico evolutivo, sino que reviste gran importancia médica. Está en manos del laboratorio determinar con el mayor grado de certeza posible si se está en presencia del agente causal de una enfermedad infecciosa.

En este punto la llegada de MALDI TOF ha representado un punto de inflexión. La incuestionable utilidad de la espectrometría de masas se ha erigido en una herramienta imprescindible en cualquier laboratorio de mediana complejidad.

Su uso nos ha llevado a la identificación de especies microbianas que nos enfrentan a la dicotomía de discernir entre la presencia de un agente patógeno o uno contaminante o banal. Ello nos conduce a replantear de manera constante los criterios clásicos de jerarquización clínica. Para ello deben considerarse varios puntos:

- Para muchas de las especies emergentes no están estandarizadas las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos y si existen, no son de fácil acceso a la mayoría de los laboratorios. De tal modo que la identificación correcta orienta al tratamiento antimicrobiano dirigido por parte del médico tratante.
- Las bases de datos de los sistemas comerciales de espectrometría de masas suelen tener un número limitado de espectros de esos géneros o especies microbianas particulares, lo que hace que, por momentos los resultados no cumplan los parámetros determinados por el fabricante y requiere de la interpretación del microbiólogo.
- Los perfiles proteómicos de variantes de algunas cepas puede llevar a resultados que pueden presentarse equívocos en una primera lectura.
- La actualización taxonómica regular de las bases de datos nos obliga a contextualizar nuevos taxones que pueden presentarse como emergentes siendo que solo han tenido un cambio de nomenclatura.
- El desarrollo de bases de datos propias, adecuadas a la epidemiología local, amplía la capacidad de detectar las variantes circulantes en cada región y, en algunos casos determinar factores de virulencia.
- Ante la realidad de MALDI TOF como potente herramienta de identificación microbiana cada laboratorio debería adecuar sus procedimientos de trabajo para aprovechar al máximo las ventajas que nos brinda esa tecnología. Muchos patógenos emergentes suelen ser de desarrollo lento o requieren de condiciones de cultivo especiales lo que lleva a que con determinadas muestras o contextos clínicos se deberían tomar acciones particulares para poder recuperarlos ⁽⁵⁾.

En conclusión, la emergencia de nuevos patógenos o la re-emergencia de viejos patógenos es una realidad ineludible que lleva a los laboratorios no solo a disponer de buenos métodos de identificación. Requiere de la intervención de un microbiólogo avezado para poder interpretar los aislamientos microbianos y, trabajando en equipo, poder relacionarlos con la realidad clínica de cada paciente.

Bibliografía

1. Morens DM, Folkers GK, Fauci AS. The challenge of emerging and re-emerging infectious diseases. Nature 2004; 430: 242-249. <https://doi.org/10.1038/nature02759>.



2. Morens DM, Fauci AS. Emerging pandemic diseases: How we got to COVID-19. *Cell* 2020; 182: 1077-1092. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.08.021>.
- 3 Farrar JJ. Stopping the gaps in epidemic preparedness. *N Engl J Med* 2019; 380: 1788-1789. <https://doi.org/10.1056/NEJMp1902683>.
4. Vouga M, Greub G. Emerging bacterial pathogens: the past and beyond. *Clin Microbiol Infect* 2016; 22: 12–21. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmi.2015.10.010>.
5. Barberis Claudia. Discusión de un caso clínico. Boletín informativo de RENAEM. Mayo 2025.

INFORME TÉCNICO

Evaluación de desempeño del Módulo MBT HT LIPIDART para la detección de resistencia a colistín en *Escherichia coli*

Dr. Ezequiel Albornóz, Dra. Alejandra Corso. Servicio Antimicrobianos, Departamento Bacteriología, INEI ANLIS Malbrán.

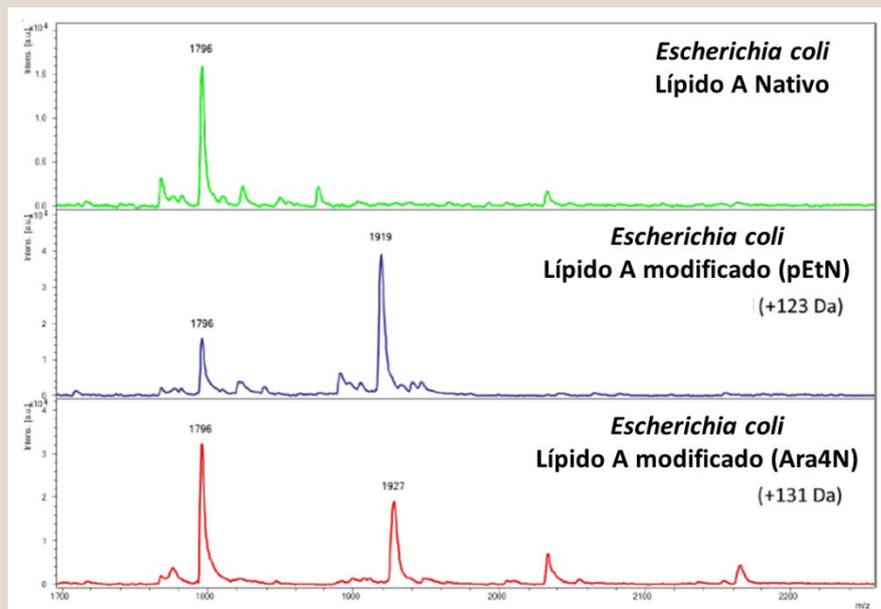
El módulo MBT HT LipidART (Lipid A Antibiotic Resistance Test) es una herramienta para la detección rápida, mediante espectrometría de masas, de modificaciones en el lípido A relacionadas con la resistencia a colistín de bacterias gram negativas (no intrínsecamente resistentes). Este módulo es una extensión del software MBT Compass HT.

El software analiza los espectros obtenidos en el equipo MALDI Biotyper Sirius, de preparaciones de lípido A realizadas con el kit MBT Lipid Xtract. Procesa los espectros en función de la presencia o ausencia de modificaciones de la molécula nativa de lípido A, según lo publicado por Lee *et al.*, 2016; Dortet *et al.*, 2018; Furniss *et al.*, 2019; Furniss *et al.*, 2020; Dortet *et al.*, 2020. Para *E. coli*, la masa molecular publicada de la molécula nativa de lípido A es de 1796 m/z.

Se describen dos modificaciones diferentes de la molécula nativa de lípido A en el contexto de la resistencia a colistín:

1. La adición de fosfoetanolamina (pEtN) al lípido A nativo presenta un desplazamiento de masa de +123 Da.
2. La adición de 4-amino-4-desoxi-L-arabinosa (Ara4N) al lípido A nativo presenta un desplazamiento de masa de +131 Da.

El lípido A es un componente estructural e integral de los lipopolisacáridos (LPS) de la pared celular bacteriana. Ambas modificaciones del lípido A provocan una disminución de la unión de colistín al LPS y, posteriormente, resistencia a este antibiótico. El principio de la prueba consiste en la detección de tres variantes diferentes de la molécula de lípido A: nativa, modificada con pEtN y modificada con Ara4N.



La presencia de una molécula de lípido A modificada se correlaciona con resistencia fenotípica a colistín. La ausencia de este tipo de modificación no implica necesariamente que la cepa sea fenotípicamente sensible, ya que la resistencia fenotípica a colistín también puede deberse a un mecanismo diferente (por ejemplo, formación de cápsulas, bombas de eflujo, etc.).

Para evaluar el desempeño del Módulo MBT HT LipidART para la detección de resistencia a colistín en *Escherichia coli* se utilizaron 33 aislamientos pertenecientes al repositorio del Laboratorio Nacional de Referencia en Resistencia a los Antimicrobianos. En la Tabla 1 se describen las características fenotípicas y moleculares de los aislamientos respecto de colistín, 27 eran resistentes (24 portadores de *mcr-1*, 2 portadores de mutaciones cromosómicas en *pmrA* y/o *pmrB* y 1 portador de *mcr-2*) y 6 sensibles (incluidas las *E. coli* ATCC 25922 y 35218).

Para la preparación de las muestras se partió de un cultivo fresco (24hs) en agar sangre y se utilizó el kit MBT Lipid Xtract según las indicaciones del fabricante. Los espectros se obtuvieron en el MALDI Biotyper Sirius, en el modo ion negativo, en un rango de masa de 500-3000 m/z.

Todos los aislamientos clasificados como Lípido A-Modificado por el módulo MBT HT LipidART correspondieron a aislamientos resistentes a colistín (27/27) y todos los clasificados como Lípido A-Nativo correspondieron a aislamientos sensibles a colistín (6/6) (Tabla 1).

Tabla 1. Desempeño del Módulo MBT HT LipidART para la detección de resistencia a colistín en *E. coli*

n	CIM Colistín	Gen <i>mcr-1</i>	Gen <i>mcr-2</i>	Resultado MBT HT LipidART	Interpretación*
24	≥4 (R)	+	-	pEtN-Modification	Lípido A modificado (R)
1	≥4 (R)	-	+	pEtN-Modification	Lípido A modificado (R)
1	≥4 (R)	-	-	Ara4N-Modification	Lípido A modificado (R)
1	≥4 (R)	-	-	pEtN-Modification +Ara4N-Modification	Lípido A modificado (R)
6	≤1 (S)	-	-	Non-Modified	Lípido A Nativo

*Una interpretación de lípidoA modificado implica que el aislamiento es resistente (R), en cambio Lípido A Nativo no implica que el aislamiento sea sensible.

El módulo MBT HT LipidART mostró una excelente correlación (100%) entre la detección del lípido A modificado y la resistencia fenotípica a colistín. Constituye una herramienta rápida para la detección de resistencia a colistín, con un análisis e interpretación automatizada de los resultados. Sin embargo, hay que resaltar que los aislamientos podrían portar otros mecanismos de resistencia a colistín no mediados por las modificaciones en el lípido A. La versión vigente de éste módulo sólo es capaz de analizar los espectros generados con MALDI Biotyper Sirius, en modo ion negativo, de extractos lipídicos de *E. coli* y *K. pneumoniae* obtenidos mediante el kit comercial MBT Lipid Xtract.

CASO CLÍNICO

Identificación errónea mediante MALDI-TOF MS y su impacto clínico: *Neisseria shayeganii*

Dra. Claudia Barberis, Prof.Dr. Carlos Vay

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Hospital de Clínicas José de San Martín,
Departamento de Bioquímica Clínica, Cátedra de Microbiología Clínica, Buenos Aires, Argentina

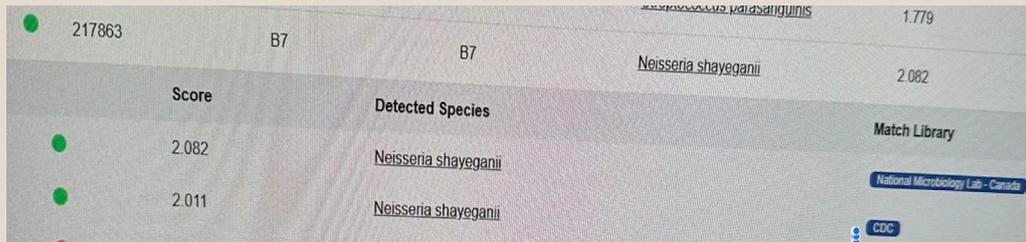
Durante la rutina de identificación bacteriana con espectrometría de masas MALDI-TOF MS (Bruker Biotyper versión 13), se detectó una identificación no confiable a partir de una colonia aislada de una secreción respiratoria de un paciente con enfermedad respiratoria crónica. El equipo arrojó un resultado con score 1,58 para *Neisseria meningitidis* (**Foto 1**), lo cual no cumple con los criterios de confiabilidad del fabricante (score >2.0 para especie) ni con los criterios ampliados de la literatura (score >1.7 si los tres primeros resultados coinciden). De haberse aceptado dicho resultado, se hubiera incurrido en una identificación errónea, con serias implicancias clínicas y de salud pública.

Score	Detected Species
1.52	Neisseria meningitidis MB_8295_05
1.42	Neisseria meningitidis C1 2 PGM
1.38	Neisseria meningitidis Serogroup_A
1.37	Neisseria meningitidis 639 PGM

Foto 1: Resultado de MALDI-TOF con score 1,58 para *N. meningitidis*

Hallazgos microbiológicos que orientaron la sospecha

- La morfología bacilar observada en la coloración de Gram no era compatible con *N. meningitidis*, pero sí con otras especies como *Neisseria elongata* o *Neisseria bacilliformis*.
- Ante la sospecha de una especie no contenida en la base de datos, se decidió migrar el espectro a la base MicrobeNet (CDC, Atlanta), donde se identificó con un score >2.0 a ***Neisseria shayeganii***, una especie de morfología bacilar reconocida recientemente (**Foto 2**).



Score	Detected Species
2.082	<i>Neisseria shayeganii</i>
2.011	<i>Neisseria shayeganii</i>

Foto 2: Resultado de MicrobeNet identificando *N. shayeganii* con score >2.0

⚠ Implicancias clínicas

Una identificación errónea de *Neisseria meningitidis* podría haber desencadenado:

- Inicio inmediato de tratamiento antibiótico empírico innecesario
- Medidas de aislamiento injustificadas
- Notificación obligatoria de una infección invasiva no real
- Estrés y preocupación en el equipo de salud y el entorno del paciente

✓ Recomendaciones para evitar errores con implicancia clínica

1. No aceptar scores por debajo del umbral establecido para identificación a nivel de especie, aun si la especie aparece repetidamente en el top ten del resultado.
2. Considerar siempre que:
 - Scores bajos pueden deberse a una especie no contenida en la base de datos.
 - La correlación con la coloración de Gram y otras pruebas microbiológicas es fundamental para validar el resultado.
3. Utilizar herramientas adicionales para confirmar la identificación: MicrobeNet (<https://microbenet.cdc.gov/>), Secuenciación genómica u otros métodos moleculares de referencia

Conclusión

Este caso resalta la importancia de una interpretación crítica de los resultados de MALDI-TOF MS. Una identificación precipitada de *N. meningitidis*, basada en un score no confiable, puede llevar a decisiones clínicas y epidemiológicas inapropiadas.

Es fundamental integrar todos los elementos del análisis microbiológico —morfología, contexto clínico, espectros de referencia y bases de datos complementarias— para lograr una identificación precisa. Respetar los criterios establecidos por el fabricante o por expertos en el uso clínico de MALDI-TOF MS es esencial para la seguridad del paciente y la salud pública.

Bibliografía

1. Morel F, Jacquier H, Desroches M, Fihman V, Kumanski S, Cambau E, Decousser JW, Berçot B. Use of Andromas and Bruker MALDI-TOF MS in the identification of *Neisseria*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2018;37(12):2273-2277. doi: 10.1007/s10096-018-3368-6.
2. Wolfgang WJ, Carpenter AN, Cole JA, et al. *Neisseria wadsworthii* sp. nov. and *Neisseria shayeganii* sp. nov., isolated from clinical specimens. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2011;61(Pt 1):91-98. doi: 10.1099/ijs.0.022426-0.