

Identificación de Micobacterias por MALDI TOF



2026

Ikela Muñoz Espinoza
Tecnólogo Médico
Sección Micobacterias
Departamento Biomédico Nacional y de Referencia

Espectrometría de masas MALDI-TOF

MALDITOF

Siglas del inglés Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization (desorción/ionización láser asistida por matriz) y TOF del inglés Time-Of-Flight (tiempo de vuelo)

Es un método donde una muestra se mezcla con una sustancia que la protege y luego se le apunta con un láser. Esto hace que las moléculas se liberen (desorción) y se carguen eléctricamente (ionización) sin romperse, para poder ser medidas en un espectrómetro de masas.

Fundamento

La espectrometría de masas es una técnica analítica en la que los átomos o moléculas de una muestra son ionizados, permitiendo que puedan ser separados de acuerdo a su relación masa/carga (m/q) y luego ser detectados por fotomultiplicadores y sus registros convertidos en información digital para ser tratados mediante procesos informáticos.

Espectrometría de masas MALDI-TOF

Fundamento

La cepa analizada, aporta sus macromoléculas proteicas para lo cual es primero implantada en una base o Target de acero inoxidable, luego es cubierta por una matriz cristalina orgánica cuya composición es α -ciano-4-hidroxycinamínico especial para analizar péptidos, que protegerá a las moléculas proteicas de ser destruidas y facilitará la vaporización y la ionización.

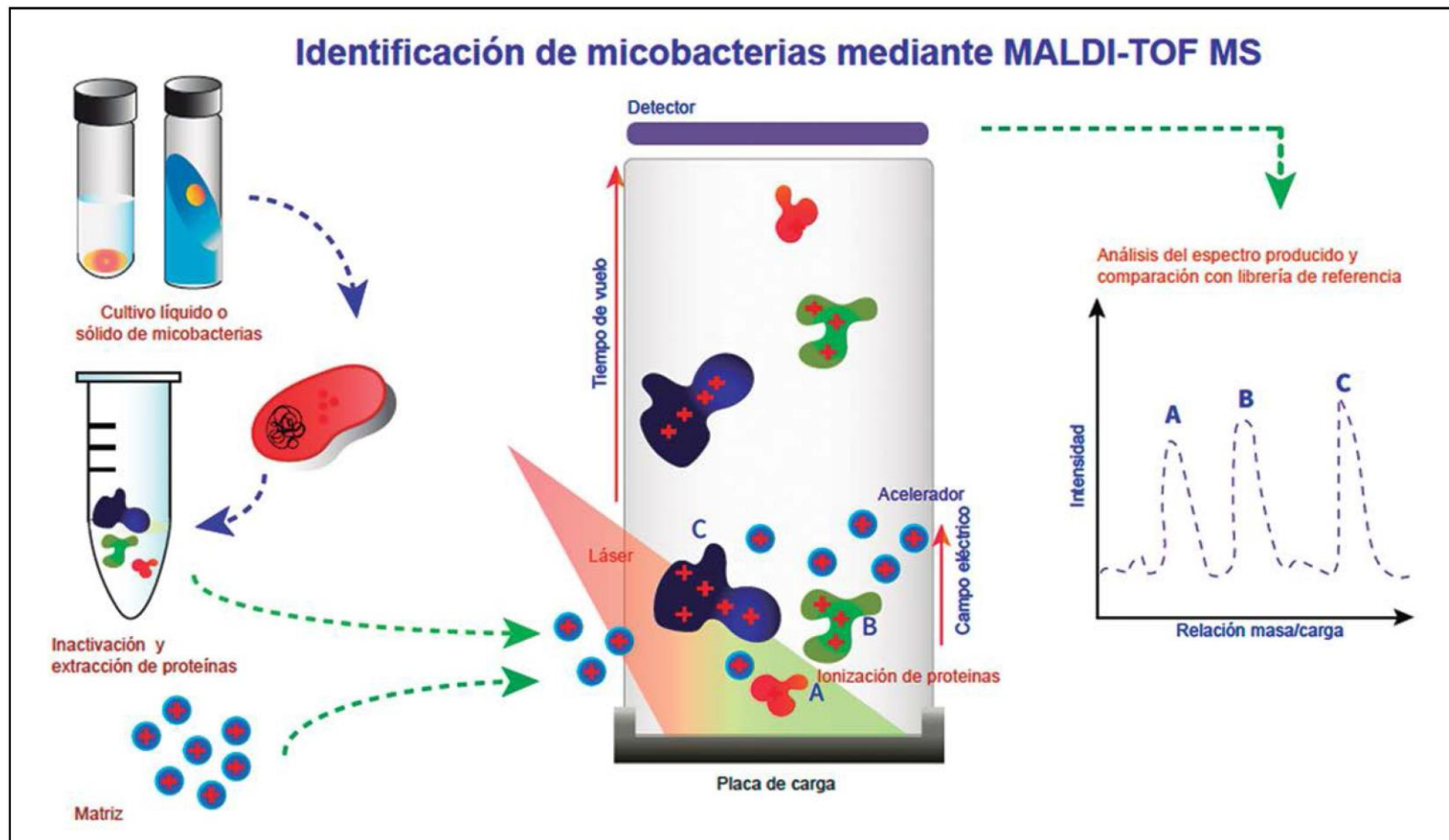
La muestra contenida en una cámara al vacío es entonces irradiada con un láser pulsado de nitrógeno en distintas áreas. La energía del láser expulsa los iones de la matriz que cubren a las proteínas, ambas electrónicamente excitadas, cationes y macromoléculas neutrales, que crean una densa nube de gas por encima de la superficie de la muestra. Los fragmentos ionizados adquieren una carga electrónica de acuerdo a su relación masa/carga (m/q) y posteriormente se desplazan hasta impactar en el sensor multiplicador, originando señales donde se determina la velocidad o tiempo de vuelo (TOF), llegando las partículas más pequeñas primero y las de mayor peso o tamaño después y estas señales son interpretadas en la o las librerías informáticas del equipo.

Espectrometría de masas MALDI-TOF

Resumen

La espectrometría de masas por MALDITOF comprende:

- El uso de un láser para vaporizar e ionizar moléculas
- La medición de la relación masa/carga de las moléculas
- La generación de un espectro de masas mediante tiempo de vuelo que se compara con una base de datos de espectros de masas a partir de microorganismos conocidos.
- La identificación de la cepa desconocida se realiza en función de la coincidencia mas cercana



La espectrometría de masas se basa en la comparación del espectro proteico producido por una muestra en particular, respecto al de una base de datos de referencia.

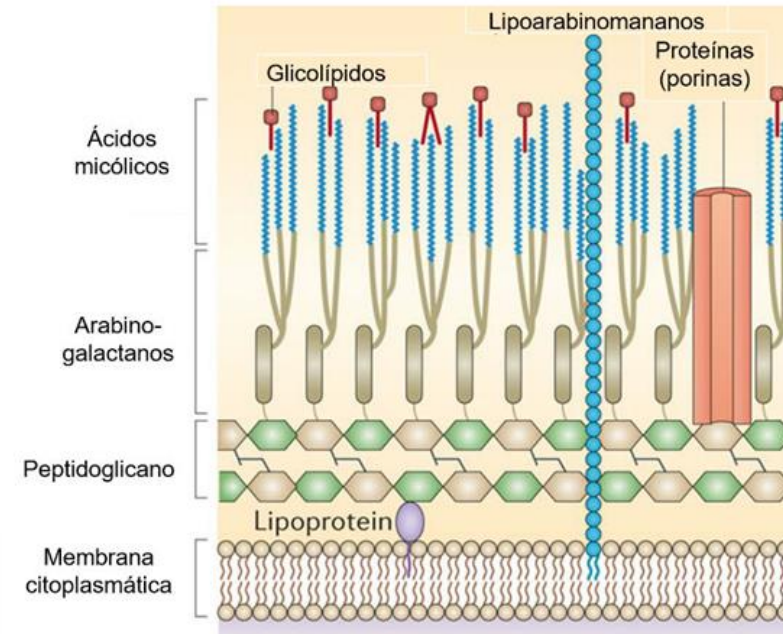
Contreras, Samuel, Rodríguez, David, Vera, Francisco, Balcells, María Elvira, Celis, Luis, Legarraga, Paulette, Román, Juan Carlos, & García, Patricia. (2020). Identificación de especies de micobacterias mediante espectrometría de masas (MALDI-TOF). *Revista chilena de infectología*, 37(3), 252-256

Desafíos

- Pared celular rica en lípidos
- Difícil lisis
- Baja liberación de proteínas

Proceso

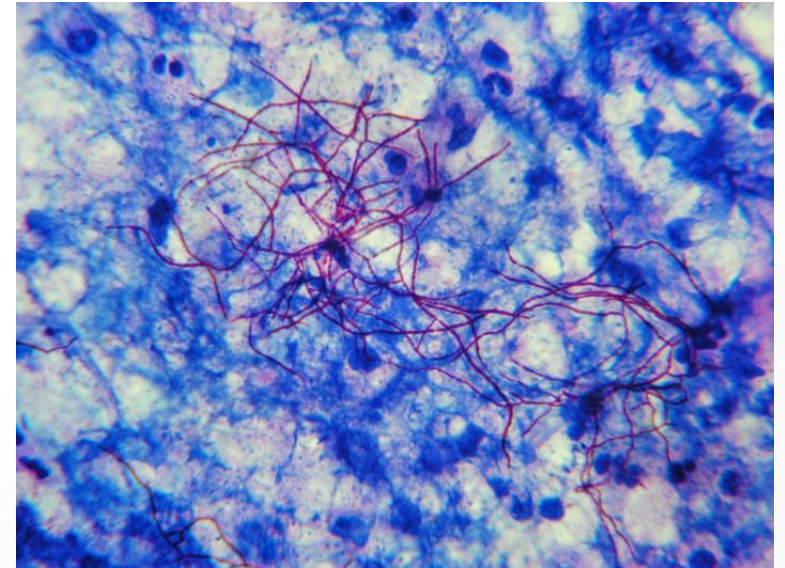
- Cultivo puro
- Inactivación
- Extracción
- Aplicación en placa
- Análisis



Métodos de extracción:

- Método de extracción para cepas de Micobacterias y Nocardias

- Colocar 300 µl de agua HPLC en un tubo Eppendorf de 1.5 ml
- Transferir con asa de inoculación de 10 µl, hasta tres colonias para obtener un buen tamaño del pellet, homogeneizar.
- Inactivar por calor a 95°C (+/- 2° C), por 30 minutos en baño María
- Centrifugar por 2 minutos a 13.000 o 15.000 rpm y eliminar el sobrenadante
- Re-suspender el pellet con 300 µl de agua HPLC
- Añadir 900 µl de Etanol 100% y mezclar vigorosamente mediante vortex por 1 minuto.
- Centrifugar por 2 minutos a 13.000 o 15.000 rpm y eliminar el sobrenadante
- Re-suspender el pellet con 500 µl de agua HPLC
- Centrifugar 2 minutos a máx. velocidad (spin), eliminar el sobrenadante y re-suspender el pellet con 50 µl agua HPLC.
- Inactivar por calor a 95°C (+/- 2° C), por 10 minutos en baño María
- Una vez frías las muestras, agregar 1200 µl de Etanol puro (almacenado en congelador -20°C+/-2)
- Centrifugar 2 minutos a máx. velocidad (13.000 rpm), eliminar el sobrenadante
- Centrifugar nuevamente y eliminar el etanol residual cuidadosamente con pipeta
- Secar el pellet a T° Ambiente por 2 minutos
- Añadir las perlitas de Silica 0,5 mm (cantidad aprox. de una espátula pequeña)
- Agregar 50 µl de Acetonitrilo puro
- Vortear la mezcla a máxima velocidad por 1 min
- Agregar 50 µl de Acido Fórmico al 70%
- Vortear la mezcla a máxima velocidad por 5 a 10 segundos
- Centrifugar 2 minutos a máx. velocidad (13.000 rpm)
- Utilizar el sobrenadante (extracto)



Métodos de extracción:

- Método de extracción para cepas de Micobacterias Sección Micobacterias

El MBT Mycobacteria IVD Kit es un dispositivo de diagnóstico in vitro para la preparación de muestras de micobacterias a partir de cultivos de medios líquidos y sólidos con crecimiento positivo destinados al cultivo de especies de *Mycobacterium*.

Se utiliza junto con el espectrómetro de masas Bruker IVD MALDI-TOF, el software, las bibliotecas de referencia y los reactivos del flujo de trabajo de MALDI Biotyper para facilitar la identificación cualitativa semiautomatizada y la diferenciación de infecciones por *Mycobacterium spp.* en muestras derivadas de muestras humanas. Los resultados se utilizan junto con otros hallazgos clínicos y de laboratorio para ayudar en el diagnóstico.



Métodos de extracción:

- Método de extracción para cepas de Micobacterias Sección Micobacterias

1.- Recoja la biomasa en 1,2 mL de medio desde la parte inferior de un tubo o frasco con una pipeta Pasteur desechable.

1* Recoja la biomasa en 6-7 mL de medio desde la parte inferior de un tubo o frasco con una pipeta Pasteur desechable.

Para medios sólidos tome una masa visible con asa de 10 µl

2.- Transfiera el medio con la biomasa a un vial de suspensión.

3.- Centrifugue a velocidad máxima durante 2 minutos entre 13 000 y 15 000 rpm.

3* Centrifugue a velocidad máxima durante 5 minutos entre 13 000 y 15 000 rpm.

4.- Elimine con una pipeta el sobrenadante.

4* Junte todos los precipitados en un tubo adecuado al volumen a utilizar y añada agua desionizada calidad HPLC al pellet formado, vortexee la mezcla y repita la centrifugación. Elimine con una pipeta el sobrenadante

PRECAUCIÓN

Es esencial eliminar cuidadosamente todo el medio líquido después de la centrifugación. De lo contrario, pueden adquirirse espectros de masa que no son aptos para fines de identificación. Puede usar puntas de micropipetas para eliminar el líquido remanente.



Métodos de extracción:

- Método de extracción para cepas de Micobacterias Sección Micobacterias

5.- Añada 300 µL de solución de lavado.

6.- Añada 900 µL de reactivo de inactivación.

7.- Suspenda la biomasa utilizando un vórtex durante 1 minuto a velocidad máxima.

8.- Incube 30 minutos a temperatura ambiente (TA) para inactivar las bacterias.

9.- Centrifugue a velocidad máxima durante 2 minutos entre 13 000 y 15 000 rpm.

9* Centrifugue a velocidad máxima durante 5 minutos entre 13 000 y 15 000 rpm.

10.- Elimine con una pipeta el sobrenadante.

11.- Centrifugue a velocidad máxima durante 10 segundos entre 13 000 y 15 000 rpm.

12.- Elimine con una pipeta el resto de sobrenadante.



Métodos de extracción:

- Método de extracción para cepas de Micobacterias Sección Micobacterias

13.- Añada 50 µL de acetonitrilo y pipetee hacia arriba y abajo 5 veces.

13* Cuide que no quede masa bacilar en las paredes, llévelas al fondo del tubo

14.- Añada 50 µL de ácido fórmico al 70 %.

15.- Agite durante 1 minuto a velocidad máxima.

15* Agite durante 2-3 minuto a velocidad máxima usando vórtex

16.- Centrifugue a velocidad máxima durante 2 minutos entre 13 000 y 15 000 rpm.

16* Centrifugue a velocidad máxima durante 5 minutos entre 13 000 y 15 000 rpm.

17.- Ponga 1 µL de sobrenadante del extracto en la placa de muestras MALDI y deje que se seque; recúbralo con 1 µL de IVD Matrix HCCA-portioned y deje que se seque.

17* Ponga 1 µL de sobrenadante del extracto en la placa de muestras MALDI y deje que se seque, una vez seco cargue nuevamente 1 µL de sobrenadante del extracto y espere que seque; recúbralo con 1 µL de IVD Matrix HCCA-portioned y deje que se seque.

*** Evalúe la cantidad a pocillos en que cargará el extracto. Recomendamos 2 o 3, según la placa utilizada, si es reutilizable o desechable.



Métodos de extracción:

- Método de extracción para cepas de Micobacterias Sección Micobacterias

18.- En el software MBT, elija la opción de tipo de muestra «Mycobacteria» para el análisis.

19.- Introduzca la placa de muestras MALDI y complete la medición MALDI-TOF MS.

20.- El MBT identificará el organismo, y los resultados se notificarán a través del informe de clasificación de resultados del MBT System.



Métodos de extracción:

- Método de extracción para cepas de Micobacterias Sección Micobacterias

PRECAUCIONES:

Una vez que la muestra se ha secado, se recomienda añadir la solución IVD Matrix HCCA- portioned antes de que transcurran 30 minutos. Se deben ignorar los resultados de la identificación de una muestra que se recubrió con disolución de IVD Matrix HCCA-portioned más de 30 minutos después del secado. Se debe repetir la preparación de esa muestra en una posición de placa de muestras MALDI no ocupada o en una placa de muestras MALDI diferente

Las placas de muestras MALDI preparadas deben analizarse en un período máximo de 24 horas tras la preparación. Sin embargo, el análisis debe realizarse en un plazo de 8 horas para obtener un resultado óptimo. Si han pasado más de 24 horas desde la preparación, se debe repetir el procedimiento de preparación de la muestra de la placa de muestras MALDI.

Asegúrese de que los puntos están bien separados entre sí y que ninguno de ellos entre en contacto con una posición próxima. Si se produce el traspaso en una placa de muestras MALDI desechable, se deben desechar las posiciones afectadas y se debe repetir la preparación de la muestra en posiciones sin usar o en una nueva placa de muestras MALDI.

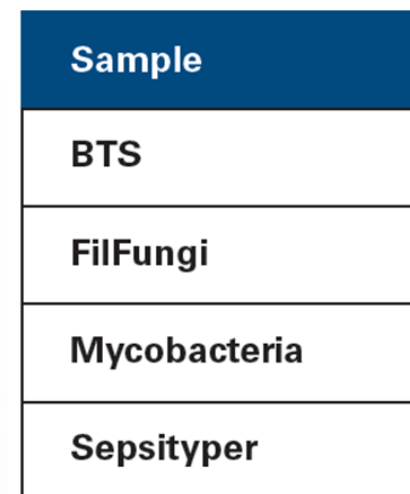


Mycobacteria library

182 species entries

<i>M. abscessus</i>	<i>M. diemhoferi</i>	<i>M. kyorinense</i>	<i>M. pseudoshottsii</i>
<i>M. africanum</i>	<i>M. doricum</i>	<i>M. lacus</i>	<i>M. psychrotolerans</i>
<i>M. agri</i>	<i>M. duvalii</i>	<i>M. lehmannii</i>	<i>M. pulveris</i>
<i>M. aichiense</i>	<i>M. eburneum</i>	<i>M. lentiflavum</i>	<i>M. pyrenivorans</i>
<i>M. algericum</i>	<i>M. elephantis</i>	<i>M. litorale</i>	<i>M. rhodesiae</i>
<i>M. alsense</i>	<i>M. engbaekii</i>	<i>M. llatzerense</i>	<i>M. riyadhense</i>
<i>M. alvei</i>	<i>M. europaeum</i>	<i>M. longobardum</i>	<i>M. rufum</i>
<i>M. angelicum</i>	<i>M. fallax</i>	<i>M. lutetiense</i>	<i>M. rutilum</i>
<i>M. anyangense</i>	<i>M. farcinogenes</i>	<i>M. madagascariense</i>	<i>M. salmoniphilum</i>
<i>M. aquaticum</i>	<i>M. flavescens</i>	<i>M. mageritense</i>	<i>M. saopaulense</i>
<i>M. arabiense</i>	<i>M. florentinum</i>	<i>M. malmoense</i>	<i>M. saraceniae</i>
<i>M. arcueilense</i>	<i>M. fluoranthenorans</i>	<i>M. mantonii</i>	<i>M. saskatchewanense</i>
<i>M. aromaticivorans</i>	<i>M. fortuitum</i>	<i>M. marinum</i>	<i>M. scrofulaceum</i>
<i>M. arosiense</i>	<i>M. fragae</i>	<i>M. marseillense</i>	<i>M. sediminis</i>
<i>M. arupense</i>	<i>M. franklinii</i>	<i>M. microti</i>	<i>M. senegalense</i>
<i>M. asiaticum</i>	<i>M. frederiksbergense</i>	<i>M. minnesotense</i>	<i>M. senuense</i>
<i>M. aubagnense</i>	<i>M. gadium</i>	<i>M. monacense</i>	<i>M. seoulense</i>
<i>M. aurum</i>	<i>M. gastri</i>	<i>M. montefiorensis</i>	<i>M. septicum</i>
<i>M. austroafricanum</i>	<i>M. genavense</i>	<i>M. montmartrensis</i>	<i>M. setense</i>
<i>M. avium</i>	<i>M. gilvum</i>	<i>M. morioakaense</i>	<i>M. sherrisii</i>
<i>M. bacteremicum</i>	<i>M. goodii</i>	<i>M. mucogenicum</i>	<i>M. shigaense</i>
<i>M. basiliense</i>	<i>M. gordoniae</i>	<i>M. murale</i>	<i>M. shimoidae</i>
<i>M. boenickei</i>	<i>M. grossiae</i>	<i>M. nebraskense</i>	<i>M. shinjukuense</i>
<i>M. bohemicum</i>	<i>M. haemophilum</i>	<i>M. neoaurum</i>	<i>M. simiae</i>
<i>M. botniense</i>	<i>M. hassiacum</i>	<i>M. neumannii</i>	<i>M. smegmatis</i>
<i>M. bovis</i>	<i>M. heckeshornense</i>	<i>M. neworleansense</i>	<i>M. sphagni</i>
<i>M. bourgelatii</i>	<i>M. heidelbergense</i>	<i>M. nonchromogenicum</i>	<i>M. stephanolepidis</i>
<i>M. branderi</i>	<i>M. helvum</i>	<i>M. noviomagense</i>	<i>M. stomatopiae</i>
<i>M. brisbanense</i>	<i>M. heraklionense</i>	<i>M. novocastrensis</i>	<i>M. szulgai</i>
<i>M. brumae</i>	<i>M. hiberniae</i>	<i>M. obuense</i>	<i>M. talmoniae</i>
<i>M. canariensis</i>	<i>M. hippocampi</i>	<i>M. pallens</i>	<i>M. terrae</i>
<i>M. caprae</i>	<i>M. hodleri</i>	<i>M. palustre</i>	<i>M. thermoresistibile</i>
<i>M. celatum</i>	<i>M. holsaticum</i>	<i>M. paraense</i>	<i>M. timonense</i>
<i>M. celeriflavum</i>	<i>M. houstonense</i>	<i>M. paraffinicum</i>	<i>M. tokaense</i>
<i>M. chelonae</i>	<i>M. icosiumassiliensis</i>	<i>M. parafortuitum</i>	<i>M. triplex</i>
<i>M. chimaera</i>	<i>M. immunogenum</i>	<i>M. paragordoniae</i>	<i>M. triviale</i>
<i>M. chitae</i>	<i>M. insubricum</i>	<i>M. parakoreense</i>	<i>M. tuberculosis</i>
<i>M. chlorophenolicum</i>	<i>M. interjectum</i>	<i>M. parascrofulaceum</i>	<i>M. tusciae</i>
<i>M. chubuense</i>	<i>M. intermedium</i>	<i>M. paraseoulense</i>	<i>M. vaccae</i>
<i>M. colombiense</i>	<i>M. intracellulare</i>	<i>M. paraterrae</i>	<i>M. vanbaalenii</i>
<i>M. conceptionense</i>	<i>M. iranica</i>	<i>M. parmense</i>	<i>M. virginiae</i>
<i>M. confluentis</i>	<i>M. kansasii</i>	<i>M. peregrinum</i>	<i>M. vulnerans</i>
<i>M. conspicuum</i>	<i>M. komossense</i>	<i>M. phlei</i>	<i>M. wolinskyi</i>
<i>M. cookii</i>	<i>M. koreense</i>	<i>M. phocaicum</i>	<i>M. xenopi</i>
<i>M. cosmeticum</i>	<i>M. kubicae</i>	<i>M. porcinum</i>	
<i>M. crocinum</i>	<i>M. kumamotoense</i>	<i>M. poriferae</i>	

La selección de un flujo de trabajo específico para micobacterias resulta en un aumento de la sensibilidad sin pérdida de especificidad



Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 - 3.00	High-confidence species identification	(+++)	green
1.70 - 1.99	Low-confidence species identification	(+)	yellow
0.00 - 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	red

Métodos de extracción:

- Método de extracción para cepas de Micobacterias Sección Micobacterias

Result Overview

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value	Organism (second-best match)	Score Value
D3 (+++)(A)	ATCC25922 (standard)	Escherichia coli	2.33	Escherichia coli	2.14
D4 (+++)(A)	ATCC25922 (standard)	Escherichia coli	2.32	Escherichia coli	2.16
D5 (+)(A)	1 (Mycobacteria)	Mycobacterium avium	1.76	Mycobacterium avium	1.69
D6 (+++)(A)	1 (Mycobacteria)	Mycobacterium avium	1.88	Mycobacterium avium	1.84
D7 (+)(A)	2 (Mycobacteria)	Mycobacterium chimaera intracellulare group	1.74	Mycobacterium chimaera intracellulare group	1.74
D8 (+++)(A)	2 (Mycobacteria)	Mycobacterium chimaera intracellulare group typed as M. intracellulare	1.92	Mycobacterium chimaera intracellulare group	1.90



Métodos de extracción:

- Método de extracción para cepas de Micobacterias Sección Micobacterias

Result Overview

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value	Organism (second-best match)	Score Value
D3 (+++)(A)	ATCC25922 (standard)	Escherichia coli	2.33	Escherichia coli	2.14
D4 (+++)(A)	ATCC25922 (standard)	Escherichia coli	2.32	Escherichia coli	2.16
D5 (+)(A)	1 (Mycobacteria)	Mycobacterium avium	1.76	Mycobacterium avium	1.69
D6 (+++)(A)	1 (Mycobacteria)	Mycobacterium avium	1.88	Mycobacterium avium	1.84
D7 (+)(A)	2 (Mycobacteria)	Mycobacterium chimaera intracellulare group	1.74	Mycobacterium chimaera intracellulare group	1.74
D8 (+++)(A)	2 (Mycobacteria)	Mycobacterium chimaera intracellulare group typed as M. intracellulare	1.92	Mycobacterium chimaera intracellulare group	1.90

E9 (-)(B)	9 (Mycobacteria)	No Organism Identification Possible	1.56	No Organism Identification Possible	1.53
E10 (+)(B)	9 (Mycobacteria)	Mycobacterium mucogenicum phocaicum group	1.78	Mycobacterium mucogenicum phocaicum group	1.78



Métodos de extracción:

- Método de extracción para cepas de Micobacterias Sección Micobacterias

Result Overview

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value	Organism (second-best match)	Score Value
D3 (+++)(A)	ATCC25922 (standard)	Escherichia coli	2.33	Escherichia coli	2.14
D4 (+++)(A)	ATCC25922 (standard)	Escherichia coli	2.32	Escherichia coli	2.16
D5 (+)(A)	1 (Mycobacteria)	Mycobacterium avium	1.76	Mycobacterium avium	1.69
D6 (+++)(A)	1 (Mycobacteria)	Mycobacterium avium	1.88	Mycobacterium avium	1.84
D7 (+)(A)	2 (Mycobacteria)	Mycobacterium chimaera intracellulare group	1.74	Mycobacterium chimaera intracellulare group	1.74
D8 (+++)(A)	2 (Mycobacteria)	Mycobacterium chimaera intracellulare group typed as M. intracellulare	1.82	Mycobacterium chimaera intracellulare group	1.80

Rank (Quality)	Matched Pattern	Score Value	NCBI Identifier
1 (+)	Mycobacterium avium ssp avium DSM 44158 DSM b	1.76	44454
2 (+)	Mycobacterium avium ssp avium DSM 43216 DSM b	1.69	44454
3 (+)	Mycobacterium avium ssp avium ATCC VAR	1.65	1764
4 (+)	Mycobacterium avium ssp avium DSM 44157 DSM b	1.63	44454
5 (+)	Mycobacterium avium [ssp hominissuis] 276_04 FZB b M	1.61	439334
6 (-)	Mycobacterium avium [ssp hominissuis] 142_10 HLG b	1.54	439334
7 (-)	Mycobacterium avium ssp avium CCUG 28067 CCUG b	1.53	44454
8 (-)	Mycobacterium avium ssp avium 1244_09 FZB b	1.51	44454
9 (-)	Mycobacterium avium [ssp hominissuis] 1840_09 FZB b	1.50	439334
Result table for sample 3--continued on next page			

Rank (Quality)	Matched Pattern	Score Value	NCBI Identifier
1 (+++)	Mycobacterium avium [ssp hominissuis] 276_04 FZB b M	1.88	439334
2 (+++)	Mycobacterium avium ssp avium DSM 44158 DSM b	1.84	44454
3 (+)	Mycobacterium avium [ssp hominissuis] 1840_09 FZB b	1.77	439334
4 (+)	Mycobacterium avium ssp avium DSM 43216 DSM b	1.67	44454
5 (+)	Mycobacterium avium ssp avium 1244_09 FZB b	1.66	44454
6 (+)	Mycobacterium avium [ssp hominissuis] 276_04 FZB b	1.65	439334
7 (+)	Mycobacterium avium 12029441 MVD b	1.65	1764
8 (+)	Mycobacterium avium 08 TWF	1.63	1764
9 (+)	Mycobacterium avium ssp avium CCUG 28067 CCUG b	1.63	44454
Result table for sample 4--continued on next page			

Métodos de extracción:

- Método de extracción para cepas de Micobacterias Sección Micobacterias

E9 (-) (B)	9 (Mycobacteria)	No Organism Identification Possible	1.56	No Organism Identification Possible	1.53
E10 (+) (B)	9 (Mycobacteria)	Mycobacterium mucogenicum phocaicum group	1.78	Mycobacterium mucogenicum phocaicum group	1.78

Rank (Quality)	Matched Pattern	Score Value	NCBI Identifier
1 (-)	Mycobacterium mucogenicum phocaicum group (M mucogenicum AFB053 MCW b)	1.56	56689
2 (-)	Mycobacterium mucogenicum phocaicum group (M mucogenicum 7581_09 FZB b)	1.53	56689
3 (-)	Mycobacterium mucogenicum phocaicum group (M mucogenicum 2707_12 FZB b M)	1.52	56689
4 (-)	Mycobacterium mucogenicum phocaicum group (M phocaicum CICC 23970 b)	1.48	1763
5 (-)	Mycobacterium mucogenicum phocaicum group (M mucogenicum CCUG 25238 CCUG b)	1.45	56689
6 (-)	Mycobacterium mucogenicum phocaicum group (M mucogenicum AFB037 MCW b)	1.44	56689
7 (-)	Mycobacterium mucogenicum phocaicum group (M mucogenicum DSM 44124 DSM b)	1.38	56689
8 (-)	Mycobacterium mucogenicum phocaicum group (M mucogenicum 815_11 FZB b)	1.30	56689
9 (-)	Mycobacterium mucogenicum phocaicum group (M mucogenicum 10920_10 FZB b)	1.32	56689
Result table for sample 19--continued on next page			

Rank (Quality)	Matched Pattern	Score Value	NCBI Identifier
1 (+)	Mycobacterium mucogenicum phocaicum group (M mucogenicum 2707_12 FZB b M)	1.78	56689
2 (+)	Mycobacterium mucogenicum phocaicum group (M phocaicum CICC 23970 b)	1.78	1763
3 (+)	Mycobacterium mucogenicum phocaicum group (M mucogenicum CCUG 25238 CCUG b)	1.74	56689
4 (+)	Mycobacterium mucogenicum phocaicum group (M mucogenicum 2077340 IIUB b)	1.74	56689
5 (+)	Mycobacterium mucogenicum phocaicum group (M mucogenicum CCUG 54546 CCUG b)	1.69	56689
6 (+)	Mycobacterium mucogenicum phocaicum group (M mucogenicum 7581_09 FZB b)	1.65	56689
7 (+)	Mycobacterium mucogenicum phocaicum group (M mucogenicum AFB053 MCW b)	1.62	56689
8 (-)	Mycobacterium mucogenicum phocaicum group (M mucogenicum 815_11 FZB b)	1.59	56689
9 (-)	Mycobacterium mucogenicum phocaicum group (M mucogenicum AFB037 MCW b)	1.51	56689
Result table for sample 20--continued on next page			

Puntos críticos para el procesamiento de cultivos con sospecha de MNT

Los cultivos deben ser:

- Puros (sin contaminación, frotis de cultivo)
- Biomasa adecuada (desarrollo visible)
- Frescos (dependiendo de la sospecha, crecimiento rápido o crecimiento lento, MGIT o LJ)
- Calibrador para validar la tanda (BTS: Bacterial Test Standard o *Escherichia coli* ATCC 25922)

La calibración tiene como objetivo medir 6 a 8 proteínas de tamaño específicos:

- RL29
- RS32
- RS34
- RS33 Meth
- RL29
- RS19
- RNAse A
- Myoglobin

Parámetros de
Aceptación
usando BTS

Ventajas

- Está presente en los laboratorios de microbiología (costo – efectivo)
- Tiempo de obtención de resultados rápidos
 - Alta especificidad
 - Bajo costo por muestra
- Permite alto volumen de análisis

Desventajas

- Presencia de proteínas del medio líquido causa interferencia
 - Cultivos con desarrollo abundante
 - Puros
- Nivel adecuado de confianza, lo que hace necesario repetir el análisis mediante MALDI-TOF MS y/o recurrir a métodos complementarios de identificación
- Microorganismos estrechamente relacionados no pueden distinguirse entre sí mediante MALDI-TOF



Comprometidos
con la **Salud**
de Chile

Gracias