

MALDI-TOF en el diagnóstico de las resistencias a antibióticos

MALDI-TOF mass spectrometry
technology in the diagnosis of
antibiotic resistance

Ficha de evaluación de Tecnologías nuevas y emergentes

INFORMES, ESTUDIOS E INVESTIGACIÓN



MINISTERIO
DE SANIDAD, CONSUMO
Y BIENESTAR SOCIAL



RED ESPAÑOLA DE AGENCIAS DE EVALUACIÓN
de Tecnologías e Innovaciones en el Sector Nacional de Salud



Generalitat de Catalunya
**Departament
de Salut**



Agència de Qualitat
i Avaluació Sanitàries
de Catalunya

MALDI-TOF en el diagnóstico de las resistencias a antibióticos

MALDI-TOF mass spectrometry
technology in the diagnosis of
antibiotic resistance

Ficha de evaluación de Tecnologías nuevas y emergentes

MALDI-TOF en el diagnóstico de las resistencias a antibióticos / Rita Reig Viader, Emmanuel Giménez.
— Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya. Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social. 2019 .— 76 p; 24 cm. — (Colección: Informes, estudios e investigación / Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social. Ficha de evaluación de Tecnologías nuevas y emergentes)

1. Espectrometría de masas 2. Resistencia a los antibióticos

I. España. Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social II. Cataluña. Departament de Salut. Generalitat de Catalunya III. Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya

Para citar este informe:

Reig-Viader R, Giménez E. MALDI-TOF en el diagnóstico de las resistencias a antibióticos. Barcelona: Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya; 2019.

© 2019 Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social. Generalitat de Catalunya.

© Departament de Salut. Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya.

Editan:

Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social

Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya. Departament de Salut. Generalitat de Catalunya.

Maquetación: Joana López Corduente

Diseño: Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social

Nipo: 731-19-057-8

Este documento puede ser reproducido parcial o totalmente para su uso no comercial, siempre que se cite explícitamente su procedencia.

MALDI-TOF en el diagnóstico de las resistencias a antibióticos

MALDI-TOF mass spectrometry
technology in the diagnosis of
antibiotic resistance

Ficha de evaluación de Tecnologías nuevas y emergentes

Este documento se ha realizado en el marco de la financiación del Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social para el desarrollo de las actividades del Plan anual de trabajo de la Red Española de Agencias de Evaluación de Tecnologías Sanitarias y Prestaciones del SNS, aprobado en el Pleno del Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud.



MINISTERIO
DE SANIDAD, CONSUMO
Y BIENESTAR SOCIAL



Red Española de Agencias de Evaluación
de Tecnologías Sanitarias y Prestaciones del SNS



Generalitat de Catalunya
Departament
de Salut



Agència de Qualitat
i Avaluació Sanitàries
de Catalunya

Índice

1. Resumen	11
Resum	13
English abstract	15
2. Datos generales	17
2.1. Compañía comercial o elaboradora del producto	17
2.2. Breve descripción de la tecnología evaluada	17
2.3. Población diana	19
2.4. Descripción de la patología a la que se aplica la tecnología	20
2.5. Área de especialización/abordaje	20
2.6. Dirección web de documentos de referencia publicados	21
3. Desarrollo y uso de la tecnología	23
3.1. Grado de desarrollo y uso de la tecnología	23
3.2. Tipo y uso de la tecnología	25
3.3. Lugar o ámbito de aplicación de la tecnología	26
3.4. Relación con tecnologías previas	26
3.5. Tecnología alternativa al uso actual	26
3.6. Aportación de la nueva tecnología en relación a la tecnología en uso actual	27
3.7. Licencia, reintegro de gastos u otras autorizaciones	28
4. Importancia sanitaria de la condición clínica o la población a la que se aplica	29
4.1. Incidencia y prevalencia	29
4.2. Carga de la enfermedad	32
5. Requerimientos para usar la tecnología	35
5.1. Requerimientos de infraestructura y formación	35
5.2. Coste y precio unitario	35
6. Riesgos y seguridad	37
7. Eficacia - Efectividad	39
8. Evaluación económica	47

9. Impactos	49
9.1. Impacto en salud	49
9.2. Impacto ético, social, legal, político y cultural de la implantación de la tecnología	50
9.3. Impacto económico de la tecnología	50
10. Difusión e introducción esperada de la tecnología	53
11. Recomendaciones e investigación en curso	55
11.1. Investigación en curso	55
11.2. Guías y directrices	55
11.3. Puntos clave	56
12. Referencias	59
13. Anexos	71
Anexo 1. Evaluación de la calidad de la evidencia	71

Información preliminar

Autoría

Rita Reig Viader. Autora. Doctora en Biología Celular, especialista en Biología Celular y Neurobiología. Redacción y ejecución del proyecto. Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya (AQuAS).

Emmanuel Giménez. Autor. Licenciado en estadística, y en Investigación en Técnicas de Mercado. Máster en Salud Pública. Supervisión general. Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya (AQuAS).

Coordinación

Dirección científica: Mireia Espallargues. Doctora en Medicina y Cirugía, especialista en Medicina Preventiva y Salud Pública. Coordinación y supervisión general. Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya (AQuAS), Departament de Salut. Generalitat de Catalunya; Red de Investigación en Servicios de Salud en Enfermedades Crónicas (REDISSEC).

Coordinación técnico-administrativa: Arantxa Romero. Licenciada en Veterinaria. Máster en Salud Global y Máster en Salud Pública. Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya (AQuAS).

Declaración de conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflictos de intereses que puedan competir con el interés primario y los objetivos de este informe e influir en su juicio profesional al respecto.

Agradecimientos

Este informe de evaluación ha sido sometido a un proceso de revisión externa. Esta colaboración se ha asociado a un compromiso escrito de ausencia de conflicto de intereses. La Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya agradece al Dr. Rafael María Cantón Moreno (Jefe del Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid), al Dr. José Manuel González de Buitrago (Jefe del Servicio de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica del Hospital Universitario de Salamanca) y al Dr. Juan Luis Muñoz Bellido (Jefe del Servicio de Microbiología y Parasitología del Hospital Universitario de Salamanca; Catedrático de Microbiología de la Facultad de Medicina de Salamanca) su colaboración y los comentarios aportados.

1. Resumen

MALDI-TOF en el diagnóstico de las resistencias a antibióticos

En cualquier enfermedad infecciosa, la administración de un tratamiento antibiótico adecuado en el momento oportuno y necesario es clave para la curación y evolución del paciente, y también para reducir su morbimortalidad. Por ello, es determinante que el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad se lleven a cabo con la máxima celeridad posible. El creciente aumento de la incidencia de infecciones causadas por microorganismos resistentes (o multirresistentes) a los antibióticos disponibles actualmente provoca una alta probabilidad de error en su tratamiento como ocurre, por ejemplo, en los casos de infecciones graves, el tratamiento de las cuales, debido a su urgencia, suele elegirse empíricamente, sin esperar los resultados de sensibilidad. De hecho, se estima que la elección del antibiótico, las indicaciones y la duración del tratamiento para las enfermedades infecciosas son erróneas en un 30-50% de los casos¹. Esto no solo conduce a un incremento de la morbimortalidad de estas enfermedades, sino que, aún más importante, promueve la aparición y diseminación de resistencias antimicrobianas entre los microorganismos patógenos. Precisamente, la elevada tasa de error en el tratamiento de las enfermedades infecciosas, junto con el uso descontrolado de los antibióticos de las últimas décadas tanto por parte de los profesionales clínicos prescriptores, como por los pacientes y la industria agropecuaria, es lo que ha causado que en el presente exista un número alarmante de microorganismos resistentes y, en consecuencia, haya incrementado la incidencia de enfermedades infecciosas de difícil tratamiento y la mortalidad asociada a estas. Por consiguiente, es prioritario adoptar medidas que permitan revertir y controlar esta situación.

Una de las medidas que conllevaría un efecto importante a medio plazo consiste en optimizar los tratamientos prescritos para las enfermedades infecciosas. Conocer con precisión, antes de iniciar el tratamiento farmacológico, tanto el agente infeccioso como su nivel de sensibilidad y si es portador de resistencias a los distintos antibióticos es la forma más efectiva de reducir las probabilidades de error. Por consiguiente, es necesario promover el uso de herramientas diagnósticas altamente sensibles y específicas que permitan detectar dicha sensibilidad y/o la presencia de mecanismos de resistencia con la mayor prontitud posible.

En los últimos años, la introducción de la espectrometría de masas MALDI-TOF en la rutina de la mayoría de laboratorios de microbiología clínica de los hospitales de España ha transformado el diagnóstico de gran parte de las enfermedades infecciosas. Principalmente, ha permitido reducir el tiempo (de días a unas pocas horas) y mejorar la precisión de los resultados de identificación de los microorganismos y, por tanto, optimizar el diagnóstico de estas enfermedades. En cambio, a pesar de esta mejora, la detección de mecanismos de resistencia en los microorganismos patógenos todavía se lleva a cabo mediante métodos basados en el cultivo microbiano, implicando largos tiempos de espera para obtener los resultados (a menudo más de 24 horas), a los que hay que sumar el tiempo del diagnóstico inicial.

En este sentido, en base a los antecedentes de la tecnología MALDI-TOF en cuanto a la identificación, en los últimos años se ha puesto sobre la mesa la posibilidad de extender su aplicación en el análisis de sensibilidad y la detección de resistencias antimicrobianas². De hecho, en la actualidad ya existe un kit comercial para la detección de mecanismos de resistencia basado en la espectrometría de masas MALDI-TOF y adaptado para su uso en los laboratorios clínicos³. No obstante, dado que este único kit solo es útil para un tipo de resistencias (a carbapenemas), y que la evidencia disponible en cuanto al posible uso clínico de MALDI-TOF para el análisis de mecanismos de resistencia a antibióticos procede en general de estudios experimentales no aleatorizados y/o realizados a partir de un número limitado de muestras y microorganismos, en el presente su utilidad está restringida como método confirmatorio y solo cuando el procedimiento lo requiere. Por otro lado, la evidencia proporcionada por dichos estudios sugiere que la espectrometría de masas MALDI-TOF poseería el potencial necesario para vehicular la incorporación de la identificación de resistencias y/o el análisis de sensibilidad rápido mediante espectrometría de masas a la rutina diagnóstica de los laboratorios de microbiología clínica, puesto que se trata de una herramienta disponible actualmente en la mayoría de laboratorios, rápida y con elevadas tasas de sensibilidad, especificidad y reproducibilidad. De esta manera, sería posible reducir el tiempo e incrementar la precisión de diagnóstico del paciente, permitiendo comenzar lo antes posible un tratamiento adecuado y específico para la infección.

1. Resum

MALDI-TOF en el diagnòstic de les resistències als antibiòtics

En qualsevol malaltia infecciosa, l'administració d'un tractament antibiòtic adequat en el moment oportú i necessari és clau per a la curació i evolució del pacient, i també per reduir la seva morbimortalitat. Per això, és determinant que el diagnòstic i tractament de la malaltia es duguin a terme amb la màxima celeritat possible. El creixent augment de la incidència d'infeccions causades per microorganismes resistents (o multiresistents) als antibiòtics disponibles actualment provoca una alta probabilitat d'error en el seu tractament com passa, per exemple, en els casos d'infeccions greus, el tractament de les quals, a causa de la seva urgència, sol elegir-se empíricament, sense esperar els resultats de sensibilitat. De fet, s'estima que l'elecció de l'antibiòtic, les indicacions i la durada del tractament per a les malalties infeccioses són errònies en un 30-50% dels casos.

Això no només condueix a un increment de la morbimortalitat d'aquestes malalties, sinó que, encara més important, promou l'aparició i disseminació de resistències antimicrobianes entre els microorganismes patògens. Precisament, l'elevada taxa d'error en el tractament de les malalties infeccioses, juntament amb l'ús descontrolat dels antibiòtics de les últimes dècades tant per part dels professionals clínics prescriptors, com pels pacients i la indústria agropecuària, és el que ha causat que en el present existeixi un nombre alarmant de microorganismes resistents i, en conseqüència, hagi incrementat la incidència de malalties infeccioses de difícil tractament i la mortalitat associada a aquestes. Per tant, és prioritari adoptar mesures que permetin revertir i controlar aquesta situació.

Una de les mesures que comportaria un efecte important a mitjà termini consisteix a optimitzar els tractaments prescrits per a les malalties infeccioses. Conèixer amb precisió, abans d'iniciar el tractament farmacològic, tant l'agent infecciós com el seu nivell de sensibilitat i si és portador de resistències als diferents antibiòtics és la manera més efectiva de reduir les probabilitats d'error. Per tant, és necessari promoure l'ús d'eines diagnòstiques altament sensibles i específiques que permetin detectar l'esmentada sensibilitat i/o la presència de mecanismes de resistència amb la promptitud més gran possible.

En els últims anys, la introducció de l'espectrometria de masses MALDI-TOF en la rutina de la majoria de laboratoris de microbiologia clínica dels hospitals d'Espanya ha transformat el diagnòstic de gran part de les malalties infeccioses. Principalment, ha permès reduir el temps (de dies al cap de poques hores) i millorar la precisió dels resultats d'identificació dels microorganismes i, per tant, optimitzar el diagnòstic d'aquestes malalties. En canvi, malgrat aquesta millora, la detecció de mecanismes de resistència en els microorganismes patògens encara es duu a terme mitjançant mètodes basats en el cultiu microbià, implicant llargs temps d'espera per obtenir els resultats (sovint més de 24 hores), als que cal sumar el temps del diagnòstic inicial.

En aquest sentit, partint dels antecedents de la tecnologia MALDI-TOF pel que fa a la identificació, en els últims anys s'ha posat sobre la taula la possibilitat d'estendre la seva aplicació en l'anàlisi de sensibilitat i la detecció de resistències antimicrobianes. De fet, en l'actualitat ja existeix un kit comercial per a la detecció de mecanismes de resistència basat en l'espectrometria de masses MALDI-TOF i adaptat per al seu ús als laboratoris clínics. No obstant això, atès que aquest únic kit només és útil per a un tipus de resistències (a carbapenems), i que l'evidència disponible sobre el possible ús clínic de MALDI-TOF per a l'anàlisi de mecanismes de resistència a antibiòtics procedeix en general d'estudis experimentals no aleatoritzats i/o realitzats a partir d'un nombre limitat de mostres i microorganismes, en el present la seva utilitat està restringida com a mètode confirmatori i només quan el procediment ho requereix. D'altra banda, l'evidència proporcionada pels estudis esmentats suggereix que l'espectrometria de masses MALDI-TOF tindria el potencial necessari per vehicular la incorporació de la identificació de resistències i/o l'anàlisi de sensibilitat ràpida mitjançant espectrometria de masses a la rutina diagnòstica dels laboratoris de microbiologia clínica, ja que es tracta d'una eina disponible actualment en la majoria de laboratoris, ràpida i amb elevades taxes de sensibilitat, especificitat i reproductibilitat. D'aquesta manera, seria possible reduir el temps i incrementar la precisió de diagnòstic del pacient, permetent començar com més aviat millor un tractament adequat i específic per a la infecció.

1. English abstract

MALDI-TOF mass spectrometry technology in the diagnosis of antibiotic resistance

In any infectious disease, the administration of a suitable antibiotic treatment in the appropriate and necessary moment is key for the care and evolution of the patient, and also to reduce its morbimortality. Because of that, it is determining that the diagnostic and treatment of the disease were carried out as soon as possible. The increasing incidence of caused infections for resistant pathogens (or multiresistant) to the available antibiotics provokes a high probability of error in its treatment. For instance it happens in the cases of severe infections, the treatment of which, because of being urgent, is usually chosen empirically, without expecting the outcomes of sensitivity. In fact, it is estimated that the choice of the antibiotic, the indications and the duration of the treatment for the infectious diseases are erroneous in 30-50% of the cases.

This not only it drives to an increase of the morbimortality of these diseases, but, still more important, it promotes the appearance and dissemination of antimicrobial resistances among the pathogenic microorganisms. Precisely, the high error rate in the treatment of the infectious diseases, together with the uncontrolled use of antibiotics in the last decades has caused that today there is an alarming number of resistant pathogens and, consequently, an increase of the incidence of infectious diseases of difficult treatment and the mortality associated with these ones. Therefore, it is preferential to adopt measures that allow to revert and to control this situation.

One of the measures that an important effect would entail in the medium term consists in optimizing the treatments prescribed for the infectious diseases. Knowing with accuracy -before starting the pharmacological treatment- the infectious agent as well as its level of sensitivity and whether it is a carrier of resistances in the different antibiotics is the most efficient way to reduce the probabilities of error. Therefore, it is necessary to promote the use of highly sensitive and specific diagnostic tools that allow to detect the mentioned sensitivity and/or the presence of resistance mechanisms with the possible greatest promptness.

In the last years, the introduction of the spectrometry of masses MALDI-TOF in the routine of the majority of laboratories of clinical microbiology of the hospitals in Spain has transformed the diagnostic of a great part of the infectious diseases. Mainly, it has allowed to reduce the time (from days to a few hours) and to improve the accuracy of the outcomes of identification of the pathogens and, therefore, to optimize the diagnostic of these diseases. However, the improvement, the detection of resistance mechanisms of pathogenic microorganisms is still carried out through methods based on the microbial culture, implying long waiting times to obtain the results (often more than 24 hours), in those which it is necessary to add up the time of the initial diagnostic.

In this sense, following the antecedents of the MALDI-TOF technology regarding the identification, in the last years the possibility to spread its application in the analysis of sensitivity and the detection of antimicrobial resistances has been put on the table. As a matter of fact, in the present there is already a commercial kit for the detection of resistance mechanisms based on the spectrometry of masses MALDI-TOF and adapted to the clinical laboratories for its use. However, given that this only kit is only useful for a type of resistances (in carbapenems), and that the available evidence about the possible clinical use of MALDI-TOF for the analysis of mechanisms of resistance on antibiotics comes in general from experimental studies not randomized and/or carried out from a limited number of samples and pathogens. Currently, its utility is restricted as a confirmation method and only when the procedure requires it. On the other hand, the evidence provided by the mentioned studies suggests the spectrometry of masses MALDI-TOF would have the necessary potential to convey the incorporation of the identification of resistances and/or the analysis of sensitivity fast through spectrometry of masses to the diagnostic routine of the laboratories of microbiology clinical. Moreover, it is an available tool in most of the laboratories, fast and with high rates of sensitivity, specificity and reproductibility. In this way, it would be possible to reduce the time and to increase the accuracy of diagnostic of the patient, allowing to start a suitable and specific treatment as rather better for the infection.

2. Datos generales

2.1 Compañía comercial o elaboradora del producto

Actualmente existen en el mercado dos modelos de espectrómetro de masas basado en la tecnología MALDI-TOF que son los más utilizados por los laboratorios de microbiología clínica. Estos son **MALDI Biotyper®** de **Bruker Daltonik** (Bremen, Alemania) y **VITEK® MS de Biomérieux** (Marcy-l'Étoile, Francia). Ambos disponen del marcado CE para su uso en laboratorios de microbiología y de análisis clínicos. Sin embargo, actualmente se utilizan mayoritariamente para la identificación de patógenos, y solo el modelo MALDI Biotyper® dispone de un programa informático específico para la detección de resistencias microbianas, el MBT STAR-Carba Assay, detallado más adelante (punto 3.1).

2.2 Breve descripción de la tecnología evaluada

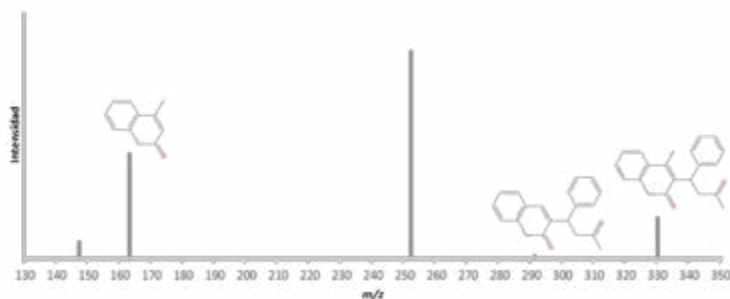
La **espectrometría de masas** (MS por sus siglas en inglés) es una herramienta de análisis molecular que se utiliza para identificar compuestos moleculares desconocidos, cuantificar compuestos moleculares conocidos y elucidar la estructura y propiedades químicas de las moléculas. La MS mide las masas de los átomos y moléculas tras su conversión, por medio de un proceso de ionización, en iones (moléculas cargadas eléctricamente). Los datos de los compuestos analizados en los espectrómetros de masas se expresan como el cociente m/z , que corresponde a la masa del ion (m) dividida por el número de sus cargas eléctricas (z).

La tecnología MALDI-TOF es una de las metodologías existentes para el análisis de muestras mediante espectrometría de masas. El acrónimo **MALDI** corresponde a las siglas en inglés de la desorción e ionización por láser de moléculas analizables asistida por una matriz⁴. En otras palabras, se trata de una técnica de ionización suave que puede aplicarse a moléculas grandes como las proteínas con el fin de separarlas, ionizarlas y analizarlas individualmente en base a sus características fisicoquímicas. La matriz es un componente fundamental de esta técnica. Se trata de una solución de un compuesto orgánico de bajo peso molecular (para que pueda evaporarse fácilmente) con alta capacidad de absorción óptica (para que absorba eficientemente la ra-

diación emitida por el láser), cuya función es la de proteger los péptidos y proteínas de su destrucción por acción directa del láser y, a su vez, facilitar su evaporación e ionización. La matriz se mezcla con la muestra sobre una placa metálica conductora, y se deja evaporar el disolvente de forma que la matriz queda recristalizada con las moléculas de los analitos (péptidos y/o proteínas) dispersas entre los cristales. La placa se irradia con el láser, de forma que la matriz excitada ioniza las moléculas de los analitos mediante la transferencia de un protón, generando iones con una única carga.

El sistema MALDI se asocia con los analizadores de masas por tiempo de vuelo (*time of flight* o **TOF**). Se trata de un tubo de vuelo por el que viajan los iones a diferente velocidad en función de su masa hacia un detector situado al extremo del analizador, llegando primero los más ligeros, seguidos de aquellas con masa progresivamente superior. Empleando los estándares adecuados es posible obtener la masa del ion desconocido de acuerdo con su tiempo de vuelo. Así, se obtiene un espectro de masas en el que se representa el cociente m/z frente a la intensidad relativa (proporción de iones de la muestra) que llega al detector de cada una de las moléculas de la muestra (Fig. 1).

Figura 1. Ejemplo de espectro de diferentes iones de diferente relación masa/carga (m/z) de una misma molécula. La intensidad depende del número de iones identificados para un mismo valor de masa/carga. En rojo se indican los átomos con carga eléctrica. Imagen generada para el informe.



Como resultado, **según la composición de cada molécula o conjunto de moléculas se obtiene un conjunto de espectros específico, y esto es extensible también a los microorganismos.** Es decir, cada especie, incluso cada cepa microbiana, produce un conjunto de espectros característico –también llamado “huella”– asociado a su composición molecular. Normalmente se analiza el espectro comprendido entre las masas 4000 y 12.000 Dalton, que comprende fundamentalmente proteínas ribosómicas, las cuales son específicas de cada microorganismo. A partir de dichas huellas se construyen grandes bases de datos que luego permiten, mediante el uso de programas informáticos especializados, la identificación de los microorganismos con un elevado

nivel de precisión. Además, a partir de esta información, también es posible detectar cambios en el microorganismo como, por ejemplo, la presencia/ausencia de moléculas implicadas en la resistencia a antibióticos.

Así pues, las características técnicas de **la espectrometría de masas MALDI-TOF permiten la caracterización a nivel molecular de una muestra biológica compleja en poco tiempo y a partir de poca cantidad de muestra**. Por este motivo, además de su elevada resolución, la principal ventaja de la utilización de esta tecnología para la detección de resistencias antimicrobianas es que permitiría **minimizar el tiempo de obtención de los resultados del análisis de sensibilidad a los antibióticos de un microorganismo**. Esto sería posible porque la espectrometría de masas MALDI-TOF permite trabajar a partir de concentraciones relativamente bajas del microorganismo presente en la muestra (reduciendo significativamente el tiempo de cultivo inicial) y porque el propio análisis molecular de la muestra es relativamente rápido y automatizado². Incluso en algunos casos, como los de muestras de orina con recuentos bacterianos elevados, se podría trabajar sobre muestra directa sin necesidad de realizar un cultivo previo, aunque estas condiciones han sido probadas en pocas ocasiones^{5,6}.

2.3 Población diana

Casi una de cada cinco infecciones está provocada por una bacteria resistente a algún antibiótico⁷. La incorrecta prescripción de los antibióticos, su uso excesivo y erróneo para el tratamiento de infecciones y como suplemento para promover el crecimiento en el ganado son los principales motivos que han llevado a la actual crisis mundial asociada a la creciente expansión de microorganismos (multi)resistentes a los antibióticos hoy día disponibles¹. La prescripción de un antibiótico ineficaz no solo no provoca el beneficio terapéutico esperado sino que además expone al paciente a potenciales complicaciones y/o efectos secundarios. Así, si el fármaco no es capaz de combatir efectivamente al patógeno, puede indirectamente promover que éste desarrolle resistencias –por ejemplo, activando su capacidad mutagénica^{1,8}–, que después puede transmitir de forma relativamente fácil a otros microorganismos de su misma especie u otras⁹.

Por estos motivos, la detección rápida de resistencias mediante MALDI-TOF estaría orientada a ser aplicada a todos los pacientes que presenten **infecciones potencialmente graves** – como en las situaciones descritas en el punto 2.4 –o producidas por **patógenos especialmente proclives a desarrollar resistencias**¹⁰– como los especificados en el punto 4.1, en los que la sensibilidad es poco previsible y el riesgo de fracaso del tratamiento empírico es, por tanto, mayor.

2.4 Descripción de la patología a la que se aplica la tecnología

La detección de resistencias mediante espectrometría de masas MALDI-TOF es aplicable para cualquier **enfermedad infecciosa**. No obstante, está especialmente indicada en las situaciones clínicas que se listan a continuación^{11,12}, en las cuales la aplicación de un tratamiento adecuado y con la mayor prontitud posible es clave para la curación o mejoría del paciente y para la reducción de la morbimortalidad asociada a la infección, y/o en las que existe una elevada probabilidad de que el microorganismo causante sea portador de una o más resistencias antimicrobianas (ver apartado 4.1).

- Infecciones potencialmente graves en **niños**
- Infecciones en **pacientes inmunodeprimidos**
- Infecciones en pacientes **ingresados en unidades de cuidados intensivos**
- Infecciones en pacientes **procedentes de hospitales o países con alta prevalencia de cepas multirresistentes**¹³
- **Gastroenteritis/enterocolitis** (infecciones del sistema gastrointestinal)^a
- **Infecciones respiratorias**, fundamentalmente en pacientes con enfermedades respiratorias crónicas, como la fibrosis quística, en las que es frecuente la infección por bacterias multirresistentes
- **Infecciones de transmisión sexual**, especialmente las causadas por *Neisseria gonorrhoeae*
- **Meningitis y encefalitis** (infecciones que afectan al sistema nervioso central), de origen bacteriano
- **Bacteriemia** (presencia de bacterias en el torrente sanguíneo)
- **Cualquier infección causada por las bacterias especificadas en el apartado 4.1.**

2.5 Área de especialización/abordaje

El uso de la espectrometría de masas mediante MALDI-TOF para la detección de resistencias a antibióticos estaría indicado dentro del área de **micro-**

^a Como norma general, las gastroenteritis bacterianas no reciben tratamiento antimicrobiano salvo en situaciones especiales.

biología clínica, y sus resultados son aplicables dentro del área de enfermedades infecciosas. Aun así, cabe mencionar que la potencial aplicabilidad de esta tecnología para la detección de biomarcadores abarca un gran número de especialidades como la neurología, la oncología o la inmunología.

2.6 Dirección web de documentos de referencia publicados

No se ha encontrado ningún caso de evaluación de la espectrometría de masas mediante MALDI-TOF para la detección de resistencias a antibióticos. Sí existen guías del National Institute for Health and Care Excellence (NICE) y de la Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health (CADTH) evaluando la aplicación de la espectrometría de masas MALDI-TOF en la identificación microbiana para el diagnóstico de enfermedades infecciosas¹⁴⁻¹⁶.

3. Desarrollo y uso de la tecnología

3.1 Grado de desarrollo y uso de la tecnología

Experimental-pilotaje o fase II

La espectrometría de masas basada en MALDI-TOF se presenta como una tecnología válida para la identificación rápida de microorganismos patógenos en los laboratorios de microbiología clínica, principalmente bacterias y hongos¹⁷⁻¹⁹, aunque también existen varios estudios limitados en virus^{20,21}. Tanto es así que, además de ser apta para sustituir a los lentos y complejos métodos tradicionales, varios estudios la sitúan por delante de sistemas automatizados diseñados específicamente para la identificación de microorganismos²²⁻²⁶ puesto que, por un lado, proporciona mejores ratios de identificación a la vez que reduce el tiempo de obtención de los resultados y, por otro lado, no requiere una verificación previa del tipo de microorganismo que se quiere analizar⁴. Dados los buenos resultados que ha proporcionado en cuanto a la identificación de los microorganismos patógenos, y considerando su versatilidad en la detección de biomarcadores en otras disciplinas clínicas^{27,28}, se está proponiendo extender su uso a la detección de las resistencias antimicrobianas especialmente en especies bacterianas patógenas²⁹⁻³².

Actualmente existen varias estrategias de detección de mecanismos de resistencias antimicrobianas mediante MALDI-TOF: (i) detección de espectros identificativos de cepas resistentes (asociados a genes/péptidos/proteínas causantes o relacionados con las resistencias)³³⁻⁴¹, (ii) detección del producto de hidrólisis del antibiótico (betalactámicos)^{5,42-59} o de su acetilación (quinolonas)^{60,61}, (iii) detección de la incorporación de ¹³C durante el crecimiento del microorganismo (MBT-RESIST)⁶²⁻⁶⁴, y (iv) cuantificación del crecimiento del microorganismo en presencia/ausencia del antibiótico (MBT-ASTRA)^{59,65-71}. Los dos métodos que presentan resultados más prometedores para su implantación a corto/medio plazo en los procedimientos de microbiología clínica son los basados en la detección de los productos de hidrólisis del antibiótico y aquellos que cuantifican el crecimiento microbiano sin necesidad de la incorporación de isótopos (ii y iv, respectivamente). Ambos métodos permiten el cultivo del microorganismo en el medio más óptimo para su crecimiento y no requieren un conocimiento muy exhaustivo de las características de las moléculas causantes de la resistencia. Además, no se limitan a detectar la presencia de resistencias antimicrobianas concretas, como es el caso del primer método, sino que analizan la sensibilidad del

microorganismo a un antibiótico o grupo concreto de antibióticos en función de la cantidad de antibiótico hidrolizado (ii) o de los niveles de crecimiento (iv).

En este sentido, Bruker Daltonik (Bremen, Alemania) ha desarrollado recientemente la tecnología **MBT STAR-Carba Assay**³, un kit comercial apto para diagnóstico clínico (dispone del marcado CE para el diagnóstico *in vitro*) que permite incorporar al procedimiento de identificación del patógeno el análisis de sensibilidad a carbapenemas en *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas spp*^b y *Acinetobacter spp*. El MBT STAR-Carba Assay se basa en la detección del producto de hidrólisis del antibiótico imipenem producida por la presencia de enzimas carbapenemasas de clase A, B o D. Los estudios que han evaluado esta tecnología confirman que es capaz de identificar la actividad carbapenemasa en dichos géneros bacterianos en un tiempo máximo de 2 horas (incluyendo identificación del microorganismo y resistencias) con elevadas sensibilidad (91-100%), especificidad (98,2-100%) y reproducibilidad para los distintos antibióticos testados^{51,72-74}. Sin embargo, el rango de muestras analizado en estos estudios oscila entre 55 y 175, el tipo de muestras corresponde siempre a aislados bacterianos de características conocidas previamente por los investigadores, y solo en uno de los casos el estudio se realizó a ciegas⁷².

En general, aunque numerosos estudios experimentales sustentan la validez de algunas de las metodologías mencionadas para ser implantadas en la rutina diagnóstica de los laboratorios de microbiología clínica⁷⁵, todos ellos han sido realizados a partir de un número limitado de muestras de pacientes o de aislados bacterianos recogidos expresamente para su análisis y, en la mayoría de los casos, el análisis no está enmascarado. En otras palabras, no existen ensayos clínicos aleatorizados que impliquen grandes colecciones de muestras de pacientes. Por ello, el análisis mediante espectrometría de masas MALDI-TOF de la sensibilidad a antimicrobianos en los patógenos causantes de enfermedades infecciosas todavía no es una práctica implantada en el ámbito de la microbiología clínica, sino que su uso es ocasional y de forma confirmatoria. De todas formas, si bien no existen todavía protocolos estandarizados que hayan sido probados e implementados en la práctica clínica, cabe mencionar que en la literatura existen múltiples protocolos publicados para la detección de mecanismos de resistencia mediante MALDI-TOF pensados para el análisis microbiológico clínico de muestras de orina o de sangre^{5,38,39,42,51,65,68,76,77}. Dichos protocolos están basados en estudios experimentales y muestran una amplia heterogeneidad, por ejemplo, en cuanto al

b spp. hace referencia a cualquier especie perteneciente al género microbiano indicado.

tipo de muestra utilizada (muestras de pacientes, bacterias aisladas, etc.), los antibióticos testados (gentamicina, imipenem, cefotaxima, etc.), o la preparación de la muestra (concentración bacteriana de partida, tampón de lisis, etc.), pero podrían tomarse como referencia en el futuro.

En este momento, las principales limitaciones que presenta la detección de resistencias antimicrobianas mediante MALDI-TOF son:

- Requiere bases de datos de muy buena calidad (bien anotadas, que proporcionen altos *scores* de identificación, con información abundante y precisa para cada microorganismo y resistencia, etc.) para poder identificar eficientemente tanto el microorganismo como las posibles resistencias que contiene. Actualmente las bases de datos comerciales para la identificación de microorganismos son limitadas (no disponen de información para todos los microorganismos patógenos), lo que conlleva que solo se alcanzan altos niveles de precisión cuando la detección se lleva a cabo mediante la combinación de las bases de datos comerciales y las propias de los laboratorios⁷⁸⁻⁸⁰. Y, en cuanto a la detección de resistencias, la única base de datos comercial que existe es la del MBT STAR-BL Software Module de Bruker Daltonik (Bremen, Alemania), especializada en el análisis de actividad β -lactamasa a partir de la hidrólisis de determinados antibióticos.
- Se requieren muestras con una elevada carga bacteriana, lo que generalmente impide el uso directo de muestras de pacientes². Por tanto, salvo alguna excepción^{5,6}, sigue siendo necesario el cultivo del microorganismo (aunque los estudios más recientes están reduciendo este tiempo al mínimo, hasta menos de 4 horas de cultivo en algunos casos^{51,61,68}). Ver Tabla 1 (apartado 6.2) para más información.
- El funcionamiento óptimo de esta tecnología es con cultivos de un solo microorganismo. No existen estudios que analicen muestras complejas (de infecciones causadas por múltiples microorganismos) y/o microorganismos multirresistentes.
- En la literatura se encuentran múltiples protocolos propuestos para implementar esta tecnología a la práctica clínica que requieren ser validados y consensuados por parte de los clínicos^{5,38,39,42,51,65,68,76,77}.

3.2 Tipo y uso de la tecnología

La aplicación actual generalizada de la tecnología MALDI-TOF es en la identificación de microorganismos para el **diagnóstico rápido** de enfermedades infecciosas. En cuanto a la **detección de resistencias a antibióticos** su uso

es en casos específicos en que se requiere confirmación de una resistencia detectada mediante los análisis de sensibilidad convencionales.

3.3 Lugar o ámbito de aplicación de la tecnología

Su uso es apto para cualquier tipo de **centro hospitalario** que disponga de un servicio de microbiología clínica. De hecho, actualmente la mayoría (60-70%)^c de los laboratorios de microbiología clínica de los centros de atención especializada españoles ya utilizan la espectrometría de masas MALDI-TOF para el diagnóstico rápido de enfermedades infecciosas, pero su uso está básicamente centralizado en la fase de identificación del microorganismo.

3.4 Relación con tecnologías previas

En el presente inmediato, el objetivo de la implementación de la tecnología MALDI-TOF para la detección de resistencias microbianas es **complementar** las actuales pruebas de sensibilidad (principalmente la CMI y la difusión en agar, detalladas en el apartado 3.5) basadas en el análisis del crecimiento del microorganismo en presencia del antibiótico y que, por consiguiente, retrasan la obtención de los resultados hasta al menos 24 horas (tiempo mínimo que requiere un microorganismo para proliferar lo suficiente para ser analizable). Sin embargo, cabe destacar que algunos métodos actuales de análisis de la concentración mínima inhibitoria (CMI) mediante microdilución automatizada, como el Vitek 2 (bioMérieux, Durham, UK) o el BD Phoenix™ Automated Identification and Susceptibility Testing System (Becton Dickinson), empiezan a ofrecer resultados de sensibilidad a partir de 5-6 horas de incubación del microorganismo con el antibiótico.

3.5 Tecnología alternativa en uso actual

Actualmente la **técnica de referencia** para determinar la sensibilidad de los microorganismos patógenos a los distintos antibióticos que pueden usarse para combatirlos es el análisis de la **concentración mínima inhibitoria (CMI)**⁸¹. Es, por tanto, la metodología usada para evaluar el resto de tecnologías para el análisis de sensibilidad. La CMI se define como la concentración más baja de un fármaco capaz de inhibir el crecimiento visible de un microorganismo después de una incubación de 16-18 horas (este periodo se extiende en aquellos organismos que requieren períodos más largos de incubación para cre-

^c Dato validado por los expertos revisores del documento

cer). Se puede llevar a cabo de forma manual, aunque en los últimos años se ha extendido mucho el uso de sistemas automatizados de determinación de la CMI mediante microdilución como el Vitek 2 (bioMérieux, Durham, UK) o el BD Phoenix™ Automated Identification and Susceptibility Testing System (Becton Dickinson). En general, el análisis de la CMI se usa en los laboratorios de diagnóstico para confirmar el perfil de sensibilidad, para dar una respuesta definitiva cuando se ha obtenido un resultado con otros métodos de análisis, o cuando las técnicas de difusión en agar (antibiogramas) no son apropiadas. No obstante, hoy en día la CMI por microdilución automatizada se usa en muchos casos como método de rutina, en lugar de la difusión en agar (descrita a continuación), sobre todo en bacterias Gram negativas.

La **difusión en agar**⁸² es otra técnica ampliamente utilizada para detectar la sensibilidad antimicrobiana. En este caso, el grado de sensibilidad se observa midiendo el crecimiento de un microorganismo alrededor de un disco que contiene un antibiótico conocido, colocado en una placa de cultivo.

Ambas técnicas proporcionan resultados altamente fiables en cuanto a la detección de posibles resistencias. No obstante, su principal limitación son los largos tiempos requeridos para obtener los resultados de sensibilidad: superior a 18 horas para la difusión en agar, y entre 6-24 h para la determinación por CMI –en los casos en que el crecimiento del microorganismo se produzca adecuadamente. Y, precisamente el tiempo es uno de los parámetros clave para el éxito del tratamiento de cualquier enfermedad infecciosa^{83,84}.

3.6 Aportación de la nueva tecnología en relación a la tecnología en uso actual

La principal ventaja del uso de la espectrometría de masas para la detección de resistencias antimicrobianas es que **reduciría significativamente el tiempo de obtención de los resultados**. De hecho, dentro del ámbito de las enfermedades infecciosas, es el más rápido de los métodos diagnósticos considerados “rápidos”, ya que permite la identificación de los microorganismos y de sus resistencias en pocas horas (desde 90 minutos a 2 horas según el método), lo que es clave optimizar el uso de antimicrobianos y minimizar sus consecuencias^{5,42,51,72–74,83–86}. Tanto es así que en el caso de la sepsis, por ejemplo, se ha demostrado que cada hora de retraso en la implementación de un tratamiento eficaz resulta en un aumento de mortalidad del 7,6%¹¹.

Aunque la especificidad y sensibilidad de la espectrometría de masas MALDI-TOF todavía deben ensayarse para muchos microorganismos y tipos de resistencias (ver Tabla 1 apartado 6.2), representa un método de detección universal que teóricamente no tiene límites de resolución por debajo del nivel molecular.

Aun así, es una tecnología con mayores tasas de **reproducibilidad**^{5,51,72,77}, y unas tasas de **sensibilidad y especificidad** iguales o superiores^{87,88} a otras tecnologías (ver punto 6.2). Esto se debe, por un lado, a que su nivel de resolución es superior al de la CMI y la difusión en agar en cuanto a la detección o caracterización específica del mecanismo de resistencia (ya que, a diferencia de las otras dos metodologías, analiza la muestra a nivel molecular) y, por otro lado, a que el análisis de la muestra es automatizado (no así en el caso de la difusión en agar, para la que solo existen métodos semiautomáticos).

El **riesgo de exposición** debido a la manipulación de las muestras es **menor** que en la CMI o la difusión en agar puesto que los microorganismos son inactivados por el propio protocolo de preparación de la muestra^{78,89}.

Se trata de un **sistema muy adaptable**, abierto y fácilmente expandible por los propios usuarios ya que permite la recopilación de datos en relación a los espectros identificados en cada muestra analizada de manera que el propio usuario puede ir ampliando y refinando la base de datos. De hecho, se ha visto que el uso combinado de las bases de datos comerciales con las propias de los laboratorios mejora el rendimiento de la tecnología⁷⁸⁻⁸⁰.

Algunas de la metodologías basadas en MALDI-TOF requieren **muy poco material fungible** en comparación con la CMI y la difusión en agar, principalmente porque el análisis de sensibilidad se podría llevar a cabo a partir de la misma muestra que se ha utilizado para la identificación del microorganismo y, por tanto, se evitaría todo el procedimiento y el material asociados al análisis mediante las metodologías convencionales^{31,82,89}.

3.7 Licencia, reintegro de gastos u otras autorizaciones

Dado que la tecnología analizada en el informe corresponde a una nueva aplicación (detección de resistencias) de una tecnología que ya se encuentra en uso (identificación de microorganismos causantes de enfermedades infecciosas), no se ha encontrado información sobre autorización, reembolso de gastos u otro estado de autorización de esta tecnología en el Sistema Nacional de Salud.

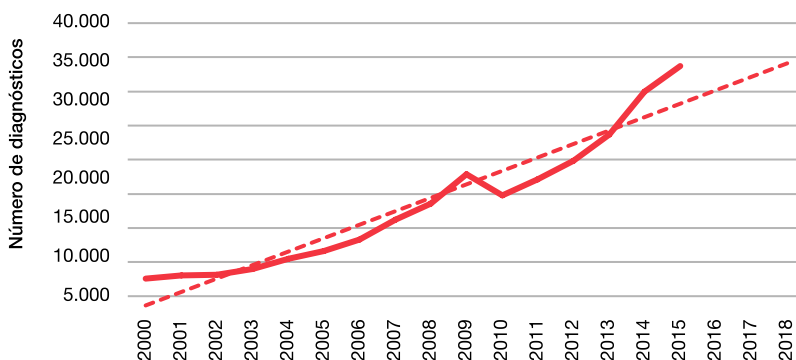
Sin embargo, por lo que respecta a la compra de los espectrómetros de masas MALDI-TOF, tal y como se detalla en el apartado 5.2 (Coste y precio unitario), cabe mencionar que la mayoría de los laboratorios hospitalarios de microbiología clínica acuerdan con las casas comerciales contratos de alquiler o de pago por muestra analizada.

4. Importancia sanitaria de la condición clínica o la población a la que se aplica

4.1 Incidencia y prevalencia

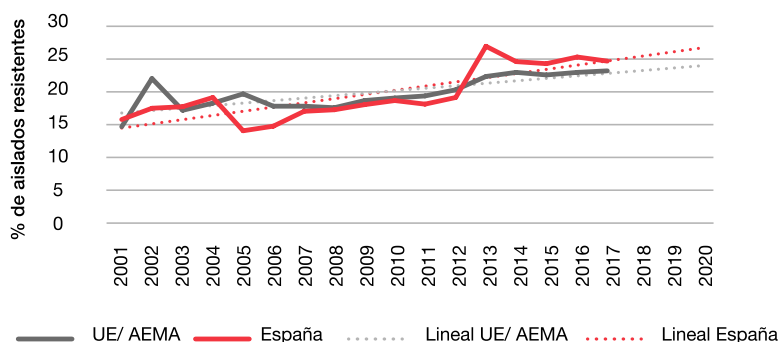
Los datos del registro Conjunto Mínimo Básico de Datos de Hospitalización (CMBD-H) del Portal Estadístico del Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social indican una tendencia creciente en cuanto al número de diagnósticos correspondientes a infecciones provocadas por microorganismos resistentes⁹⁰ (Fig. 2). Solo en 2015 se registraron 33.761 diagnósticos. Sin embargo, el número de casos registrados parece que estaría infraestimado puesto que otras fuentes consultadas reportan incidencias notablemente superiores. Así, el Registro Hospitalario de Pacientes Afectados por las Resistencias Bacterianas realizado en marzo de 2018 por la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) detectó 903 casos en solamente una semana y a partir de datos de solo 82 hospitales pertenecientes a 15 Comunidades Autónomas⁹¹. De hecho, el mismo estudio estimó que **a lo largo del 2018 el número de pacientes con infecciones provocadas por bacterias resistentes habría sido de 180 600 en toda España**, lo que concuerda con datos de la Direction Générale de la Santé de Francia que, en 2012, registró 105.511 estancias hospitalarias debidas a microorganismos resistentes⁹².

Figura 2. Número de diagnósticos de infecciones provocadas por microorganismos resistentes registrados entre los años 2000 y 2015 en el Conjunto Mínimo Básico de Datos de Hospitalización (CMBD-H) del Portal Estadístico del Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social⁹⁰. El coeficiente de determinación para la línea de tendencia es de 0,9228.



A nivel europeo, los datos del atlas de vigilancia del Centro Europeo para la Prevención y el Control de Enfermedades (ECDC por sus siglas en inglés) indican igualmente una tendencia creciente en la proporción de bacterias resistentes a antibióticos (Fig. 3). No obstante, cabe destacar que la situación es muy variable entre especies bacterianas, grupo de antibióticos y región geográfica, observándose un menor porcentaje de especies resistentes en los países del norte en comparación con los del sur y del este de Europa⁹³. Concretamente, **en España el crecimiento del número de microorganismos resistentes es más pronunciado**, tanto es así que en 2017 el porcentaje de bacterias resistentes superaba la media europea en 13 de las 25 situaciones (combinaciones bacteria-antibiótico al que es resistente) reportadas en el último informe de la ECDC⁹⁴. Estas diferencias se atribuyen a las variaciones en cuanto al uso de antibióticos, a la implementación de prácticas de prevención y control de infecciones y, en conjunto, a las diferencias en prácticas diagnósticas y clínicas del Sistema Sanitario de cada país.

Figura 3. Porcentaje de aislados bacterianos resistentes a determinados antibióticos o a combinaciones de ellos detectadas en España (rojo) y en el conjunto de países de la Unión Europea (UE) o que forman parte de la Agencia Europea de Medio Ambiente (AEMA) (gris). Los datos corresponden a la media anual de los porcentajes de aislados resistentes reportados, entre los años 2001 y 2017, en el Atlas de Vigilancia de Enfermedades Infecciosas del ECDC⁹³ para España y para los países europeos o pertenecientes a la AEMA. Los coeficientes de determinación (r^2) para las líneas de tendencia en España y en la UE/AEMA son, respectivamente, 0,6545 y 0,5714.

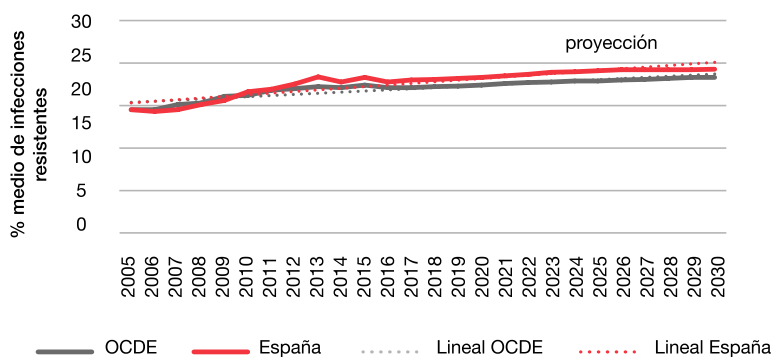


La misma tendencia, aunque más moderada, se observó para España en un informe análogo de la OCDE⁷ (Fig. 4), publicado en 2018, en que se analizó en 52 países la resistencia a antibióticos mediante ocho combinaciones antibiótico-bacteria de alta prioridad^d. Asimismo, en el informe se concluyó que

d Las combinaciones antibiótico-bacteria analizadas son: *E. coli* resistente a cefalosporinas de 3ª generación y a fluoroquinolonas, *K. pneumoniae* resistente a cefalosporinas de 3ª generación y a carbapenemas, *P. aeruginosa* resistente a carbapenemas, *S. aureus* resistente a meticilina, *S. pneumoniae* resistente a penicilina, y *E. faecalis* y *E. faecium* resistentes a vancomicina.

(i) en Europa, la proporción media de microorganismos resistentes es del 18%, siendo más elevada en los países del este y del sur de Europa, (ii) entre 2005 y 2015, la proporción de resistencias para las combinaciones estudiadas incrementó del 14% (2005) al 17% (2015) en los países de la OCDE, (iii) en este periodo, solo siete países redujeron la proporción media de microorganismos resistentes (Suiza, Reino Unido, Japón, Bélgica, Alemania, Islandia y Canadá), aunque ninguno de ellos consiguió reducirla para todas las combinaciones analizadas, (iv) fuera de la OCDE, las proporciones de resistencia se estimaron del 29% en 2015 para las mismas combinaciones, alcanzando el 42% en India, China y Rusia, y (v) en ocho países (Brasil, China, Perú, Argentina, Colombia, Arabia Saudí, Israel y Rusia) las proporciones de resistencias incrementaron para las ocho combinaciones analizadas. Estos dos últimos puntos son particularmente relevantes puesto que una vez una bacteria desarrolla una resistencia a un fármaco antimicrobiano, su diseminación global es muy rápida gracias a múltiples factores como la globalización o la migración entre países. Un ejemplo de ello es el caso de la resistencia a carbapenemas *Klebsiella pneumoniae* mediada por la enzima KPC-1, la cual en solo cinco años se expandió por todo el planeta desde los Estados Unidos, donde fue identificada por primera vez en 1989⁹⁵.

Figura 4. Ratio medio de prevalencia de infecciones causadas por bacterias resistentes a tratamiento antibiótico para ocho combinaciones antibiótico-bacteria observados en los 52 países participantes en el estudio de la OCDE (gris) y particularmente en España (rojo). Los datos corresponden a los porcentajes medios de infecciones resistentes reportadas entre los años 2005 y 2015. A partir del 2016 la tendencia corresponde a valores estimados. Los coeficientes de determinación (r^2) para las líneas de tendencia en España y en los países de la OCDE son, respectivamente, 0,822 y 0,8372.



En conjunto, esto pone de manifiesto la relevancia de tomar medidas para combatir la aparición y diseminación de las resistencias a antibióticos. Por este motivo, la Organización Mundial de la Salud (OMS) publicó en 2017 una lista de los microorganismos patógenos para los cuales urge investigar

en busca de nuevos fármacos antibióticos¹⁰. Estos son (i) considerados de prioridad crítica: *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenemas, *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenemas y *Enterobacteriaceae* (incluyendo *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Proteus* spp., *Providencia* spp. y *Morganella* spp.) resistente a carbapenemas y a cefalosporinas de tercera generación; (ii) considerados de prioridad alta: *Enterococcus faecium* resistente a vancomicina, *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina y a vancomicina, *Helicobacter pylori* resistente a claritromicina, *Campylobacter* resistente a fluoroquinolonas, *Salmonella* spp. resistente a fluoroquinolonas, y *Neisseria gonorrhoeae* resistente a fluoroquinolonas y a cefalosporinas de tercera generación; y (iii) considerados de prioridad intermedia: *Streptococcus pneumoniae* no sensible a penicilina, *Haemophilus influenzae* resistente a ampicilina y *Shigella* spp. resistente a fluoroquinolonas.

4.2 Carga de la enfermedad

La tasa de mortalidad asociada a las infecciones provocadas por microorganismos resistentes a antibióticos se encontraría aproximadamente entre el 5%⁹⁶ y el 20%⁹¹ de los individuos que sufren una infección, en función de la fuente y las variables que se tengan en cuenta. Más concretamente, el documento publicado en 2018 por la OCDE⁷, mencionado en el apartado anterior, estima en 1830 el promedio de muertes anuales en España debidas a infecciones causadas por las ocho combinaciones antibiótico-bacteria que analiza, mientras que el análisis del Registro Hospitalario de Pacientes Afectados por las Resistencias Bacterianas realizado por la SEIMC⁹¹ en 2018 indica que la resistencia a los antibióticos habría provocado alrededor de 35.000 muertes ese mismo año en España. Además, es relevante mencionar que, dado que el número de resistencias incrementa con los años, si no se toman medidas para combatir este tipo de microorganismos, la mortalidad asociada a las infecciones causadas por microorganismos resistentes incrementará de forma importante en los próximos años⁹⁷. Tanto es así que el mismo informe de la OCDE indica que en España las muertes anuales causadas por microorganismos resistentes podrían llegar a 77.700 en 20507. Estas cifras representan más de la mitad de las muertes que anualmente causa el cáncer, la segunda causa de muerte en España, el cual en 2016 provocó 112.932 muertes⁹⁸. Por último, más allá de una elevada mortalidad, según la OCDE las infecciones por bacterias resistentes tienen un impacto incluso mayor sobre la calidad de vida de las personas. Esto se debe, por ejemplo, a la mayor probabilidad que tienen estos pacientes de sufrir efectos adversos derivados de los tratamientos antibióticos, puesto que son sometidos a tratamientos más agresivos y más prolongados que los pacientes que

son tratados por una infección causada por un microorganismo no resistente^{99,100}. Además, los pacientes afectados por microorganismos resistentes deben ser aislados durante su hospitalización lo que a menudo impacta negativamente en su salud mental, e incluso se ha visto que su seguridad estaría más comprometida que en los pacientes no aislados, ya que suelen recibir menos atención hospitalaria¹⁰¹. Aunque no se han encontrado estudios al respecto, estos pacientes, puesto que requieren estancias hospitalarias más largas⁷, realizarían bajas laborales también superiores en comparación con las derivadas de infecciones causadas por microorganismos no resistentes. Por todo ello, entre otros motivos, el informe de la OCDE estima que este tipo de enfermedades afecta a la calidad de vida de sobre todo los países del sur de Europa (calculada por años de vida ajustados por discapacidad o AVADs) de manera que se calcula que en España, entre 2015 y 2050, la media anual de carga de las infecciones causadas por microorganismos resistentes sería de 110.355 AVADs⁷.

5. Requerimientos para usar la tecnología

5.1 Requerimientos de infraestructura y formación

El uso de la espectrometría de masas en general requiere unos conocimientos altamente especializados y experiencia en el campo de la proteómica. Sin embargo, los sistemas comerciales avalados para su utilización en el ámbito clínico están **adaptados** para integrar su uso dentro de **protocolos de diagnóstico clínico *in vitro*** sin necesidad de horas de formación específica más allá del aprendizaje del funcionamiento rutinario del equipo^{42,102,103}

5.2 Coste y precio unitario

Actualmente, el **precio de los espectrómetros de masas MALDI-TOF** para técnicas de diagnóstico microbiológico llevadas a cabo en los laboratorios de microbiología clínica se encuentra **entre los 120.000 y 150.000 €**, incluidos los programas informáticos necesarios para el análisis. Sin embargo, teniendo en cuenta que una parte importante de los hospitales españoles (alrededor del 60-70%) ya disponen de esta tecnología para la identificación de los microorganismos en el diagnóstico de las enfermedades infecciosas, esta inversión inicial ya no sería necesaria. De todos modos, **la mayoría de laboratorios hospitalarios de microbiología clínica** no compran directamente el espectrómetro de masas, sino que **suelen acordar con las casas comerciales contratos de alquiler o de pago por muestra analizada**. En estos casos, la compañía proporciona al laboratorio el espectrómetro de masas y los programas informáticos y bases de datos necesarios para los análisis microbiológicos que realice el laboratorio, y se encarga del mantenimiento de los equipos y de la instalación de cualquier modificación o actualización de los programas o de las bases de datos.

Aunque **no se han encontrado estudios que analicen el coste de realizar el análisis de resistencias antimicrobianas mediante espectrometría de masas MALDI-TOF**, se estima que el precio aproximado por muestra de **una identificación del microorganismo patógeno no supera los 2 €** (oscilando entre los 0,25-0,5 € de las primeras estimaciones reportadas a unos 1,5 € al considerar los costes indirectos de la técnica), precio que se encuentra muy por debajo del coste (entre 10-15 € por muestra) de las tecnologías que permiten realizar el análisis automatizado de sensibilidad a antibióticos basado en

la metodología de CMI^{26,31,86,104,105} new technologies usually increase laboratory costs due to the need for an initial investment. However, as occurred with MALDI-TOF (matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight, y que se usan habitualmente en los laboratorios de microbiología clínica. Es el caso de los identificadores Vitek 2 (bioMérieux, Durham, UK) y BD PhoenixTM Automated Identification and Susceptibility Testing System (Becton Dickinson).

6. Riesgos y seguridad

La principal indicación en cuanto a seguridad concierne a las propias características de la enfermedad que se está diagnosticando, es decir, en la **manipulación de las muestras** a analizar. En general, todas las muestras de pacientes afectados por enfermedades infecciosas deben manipularse bajo cabinas de seguridad microbiológica. En determinadas ocasiones, como cuando se analizan muestras con contenido potencial de patógenos considerados de elevado grado de peligrosidad como, por ejemplo, *Brucella* spp., *Bacillus anthracis* o *Mycobacterium* spp., es necesario operarlos en laboratorios aptos para trabajar en condiciones de bioseguridad de nivel 3¹⁰⁶. En estos casos, toda la manipulación de las muestras debe realizarse con sumo cuidado, al menos hasta que pueda asegurarse que el microorganismo está completamente inactivado⁸⁹.

Por otro lado, la preparación de las muestras para ser analizadas mediante MALDI-TOF requiere el uso de **reactivos y químicos** potencialmente peligrosos como el ácido fórmico (muy corrosivo) o el acetonitrilo y el etanol (inflamables y tóxicos). Por ello, es necesario seguir las recomendaciones de los fabricantes en cuanto a su manipulación y adoptar las medidas de seguridad pertinentes.

7. Eficacia/Efectividad

La **sensibilidad** y **especificidad medias** reportadas en los diferentes estudios que diseñaron y evaluaron protocolos de detección de diversos mecanismos de resistencia a antibióticos mediante MALDI-TOF son, respectivamente, **92,5 ± 5,1** y **95,5 ± 3,3** (media ± IC 95%; ver Tabla 1). Por consiguiente, podemos afirmar que se trata de una herramienta diagnóstica altamente válida.

El tipo de metodología más empleada para la identificación de mecanismos de resistencia mediante MALDI-TOF es la detección de los productos de hidrólisis del antibiótico. Esto es debido a su amplia aplicabilidad, puesto que mientras la detección de espectros concretos o la acetilación se restringen a la identificación de resistencias concretas (equivalentes a los métodos genotípicos como la PCR), en las metodologías basadas en el análisis de los niveles de hidrólisis del antibiótico no es necesaria la detección explícita de la molécula causante de la resistencia y, por tanto, tampoco requiere un elevado conocimiento de los mecanismos biológicos específicos que la generan. Considerando solamente los estudios que detectan por MALDI-TOF los productos de hidrólisis de distintos antibióticos (Tabla 1), se obtienen una sensibilidad y especificidad medias por encima del 90% (97,5 ± 1,9 y 94,7 ± 6,0, respectivamente; media ± IC 95%)^{5,42,76,77,107-109,46-51,59,72}. Sin embargo, cabe tener en cuenta que en esta metodología de análisis ambos indicadores dependen directamente del tiempo de incubación de la bacteria con el antibiótico y de las características del propio antibiótico empleado como marcador. Por ejemplo, no son buenos marcadores aquellos antibióticos molecularmente inestables en las condiciones de análisis o que sus productos de hidrólisis no son fácilmente detectables por espectrometría de masas. Así, por ejemplo, Oviaño y colaboradores⁵¹ reportaron que la detección de actividad β-lactamasa en *Enterobacteriaceae* fue óptima (100% sensibilidad y 100% especificidad) cuando el antibiótico usado era la ceftriaxona mientras que los fármacos cefotaxima, ceftazidima y cefpodoxima no fueron buenos marcadores para la detección de sensibilidad a carbapenemas mediante espectrometría de masas. Asimismo, Li y colaboradores⁴⁹ obtuvieron los mejores resultados mediante el uso de ceftazidima en bacterias Gram-negativas productoras de la enzima AmpC (89,9% de sensibilidad y 94,5% de especificidad), y no así con los fármacos ceftriaxona, cefepima y cefoxitina. Por último, tal y como se ha comentado en el apartado 3.1, la tecnología MBT STAR-Carba Assay (Bruker Daltonik, Bremen, Alemania), basada en la hidrólisis del imipenem, ha demostrado tener una sensibilidad y una especificidad muy cercanas al 100% para la detección de resistencia a carbapenemas^{51,72,73}.

Por otro lado, actualmente empieza a tomar fuerza el uso de las metodologías basadas en la cuantificación del crecimiento del microorganismo (MBT-ASTRA)^{59,65-71} para análisis de sensibilidad mediante MALDI-TOF. Las principales razones son que el método MBT-ASTRA también proporciona buenos resultados en cuanto a sensibilidad y especificidad ($94,6 \pm 4,6$ y $95,3 \pm 2,5$, respectivamente; media \pm IC 95%) sin necesidad de conocer y/o detectar el mecanismo concreto de resistencia. Además, aunque la optimización de las condiciones de incubación del microorganismo con el antibiótico sigue siendo clave para el buen rendimiento de la técnica, las características fisicoquímicas (estabilidad molecular, puntos de hidrólisis, etc.) del antibiótico usado como marcador no interfieren en su efectividad para detectar presencia de resistencias, como sí ocurre en los métodos basados en la hidrólisis de antibióticos.

Tabla 1. Estudios que evaluaron la sensibilidad (Sens.) y la especificidad (Espec.) de protocolos de detección de resistencias mediante MALDI-TOF. Se presenta la información referente a las características de las muestras analizadas, modelo de MALDI-TOF y tipo de ensayo realizado, tiempos estimados del proceso o de determinadas etapas, prueba utilizada como referencia, resistencias analizadas y antibiótico utilizado para la detección de la resistencia, sensibilidad y especificidad expresada en porcentajes, y calidad del estudio evaluada mediante la herramienta de evaluación de pruebas diagnósticas QUADAS-2110 (ver Anexo 1). En todos los casos se trata de estudios de tipo experimental.

Fuente	N	Tipo de muestra	Bacteria	Modelo MALDI	Metodología	Tiempo	Prueba de referencia	Resistencia / antibiótico probado	Sens.	Espec.	Calidad del estudio
Pardo 2016 ⁶⁰	113	aislados	Enterobacteriaceae	VITEK MS ^a	acetilación ⁱⁱ	18-24 h + 4 h (C+)	PCR + secuenciación	fluoroquinolonas / norfloxacin	98	100	ALTA
Oviaño 2017 ⁶¹	36	aislados	E. coli y K. pneumoniae	Microflex LT MS ^b	acetilación ⁱⁱ	30 min (C)	MALDI-TOF con cepas control	fluoroquinolonas / ciprofloxacino	100	100	ALTA
Idelevich 2018 ⁶⁹	24	aislados	K. pneumoniae	Microflex LT Biotyper ^b	crecimiento ^{iv}	4 h (C)	CMI	carbapenemas / meropenem	100	100	ALTA
Idelevich 2018 ⁶⁹	24	aislados	P. aeruginosa	Microflex LT Biotyper ^b	crecimiento ^{iv}	18 h (C)	CMI	carbapenemas / meropenem	100	100	ALTA
Idelevich 2018 ⁶⁹	28	aislados	Enterobacteriaceae	Microflex LT MS ^b	crecimiento ^{iv}	4 h (C)	CMI	carbapenemas / meropenem	91,7	100	ALTA
Lange 2014 ⁵⁹	108	aislados	K. pneumoniae + K. oxytoca	Microflex LT MS ^b	crecimiento ^{iv}	1 h (I)	CMI	carbapenemas / meropenem	97,3	93,5	ALTA
Maxson 2017 ⁶⁷	35	aislados	S. aureus	Autoflex III ^b	crecimiento ^{iv}	20 h (C+)	CMI	fluoroquinolonas / ciprofloxacino	97	96	BAJA
Maxson 2017 ⁶⁷	35	aislados	S. aureus	Autoflex III ^b	crecimiento ^{iv}	20 h (C+)	CMI	penicilinas / oxacilina	91	97	BAJA
Maxson 2017 ⁶⁷	35	aislados	S. aureus	Autoflex III ^b	crecimiento ^{iv}	20 h (C+)	CMI	cefalosporinas / cefepima	95	96	BAJA
Maxson 2017 ⁶⁷	35	aislados	S. aureus	Autoflex III ^b	crecimiento ^{iv}	20 h (C+)	CMI	glicopéptidos / vancomicina	100	96	BAJA

→

Fuente	N	Tipo de muestra	Bacteria	Modelo MALDI	Metodología	Tiempo	Prueba de referencia	Resistencia / antibiótico probado	Sens.	Espec.	Calidad del estudio
Sauget 2018 ⁷⁰	61	aislados	E. coli	Microflex LT MS ^b	crecimiento ^v	2,5 h (l)	CMI	penicilinas / amoxicilina	100	93	INTERMEDIA
Sauget 2018 ⁷⁰	62	aislados	E. coli	Microflex LT MS ^b	crecimiento ^v	2,5 h (l)	CMI	cefalosporinas de 3 ^a generación / cefotaxima	94	93	INTERMEDIA
Sauget 2018 ⁷⁰	103	hemocultivo	E. coli	Microflex LT MS ^b	crecimiento ^v	2 h (l)	CMI	penicilinas / amoxicilina	98	95	INTERMEDIA
Sauget 2018 ⁷⁰	103	hemocultivo	E. coli	Microflex LT MS ^b	crecimiento ^v	2 h (l)	CMI	cefalosporinas de 3 ^a generación / cefotaxima	71	84	INTERMEDIA
Josten 2014 ³⁵	356	aislados	S. aureus	VITEK MS ^a	espectros ^l	8-18 h (C)	difusión en agar	meticilina	95	100	INTERMEDIA
Rhoads 2016 ¹¹¹	200	aislados	S. aureus resistente a meticilina	VITEK MS ^a	espectros ^l	5,5 días (C)	microarrays	meticilina	39	97	INTERMEDIA
Rhoads 2016 ¹¹¹	200	aislados	S. epidermidis resistente a meticilina	VITEK MS ^a	espectros ^l	5,5 días (C)	microarrays	meticilina	6	98	INTERMEDIA
Schuster 2018 ¹¹²	344	aislados	Staphylococcus coagulasa-negativo	Biflex IIIb	espectros ^l	16-18 h (C)	difusión en agar	meticilina	89,7	100	INTERMEDIA
Youn 2016 ³⁸	140	aislados	Enterobacteriaceae	Microflex LT MS ^b	espectros ^l	<24h (C)	difusión en agar	carbapenemas	96	99	ALTA
Su 2017 ⁶	300	esputos	M. tuberculosis	MassARRAY® Systemc	espectros ^l (genes)	<48 h (TOT)	PCR + secuenciación y tests de sensibilidad NE	8 antibióticos ^s	72,4	92,4	BAJA

→

Fuente	N	Tipo de muestra	Bacteria	Modelo MALDI	Metodología	Tiempo	Prueba de referencia	Resistencia / antibiótico probado	Sens.	Espec.	Calidad del estudio
De Carolis 2017 ⁷⁶	93	hemocultivo	E. coli y K. pneumoniae	Microflex LT MS ^b	hidrólisis ⁱⁱ	<2 h (ID+R)	CMI	cefalosporinas de 3ª generación / cefotaxima	86,8	98,2	ALTA
Oviaño 2016 ⁴²	119 +20	aislados y hemocultivo	Bacilos Gram-negativos	Microflex LT Biotyper ^b	hidrólisis ⁱⁱ	1 h (C)	CMI + PCR	carbapenemas / imipenem	100	100	ALTA
Choquet 2018 ¹⁰⁷	85	aislados	Enterobacteriaceae	Microflex LT MS ^b	hidrólisis ⁱⁱ	45 min (I+R)	CMI	carbapenemas / imipenem	100	94	BAJA
Hoyos-Mallecot 2014 ¹⁰⁸	40	hemocultivo	Enterobacteriaceae y P. aeruginosa	Microflex LT MS ^b	hidrólisis ⁱⁱ	4,5 h (I+R)	RT-PCR	carbapenemas / ertapenem	100	100	INTERMEDIA
Jung 2014 ⁴⁶	15	hemocultivo	Enterobacteriaceae (β-lactamasas clase C)	Microflex LT MS ^b	hidrólisis ⁱⁱ	24 h (C)	CMI + difusión en agar	cefalosporinas de 3ª generación / cefotaxima	100	100	BAJA
Jung 2014 ⁴⁶	85	hemocultivo	Enterobacteriaceae (β-lactamasas clase A)	Microflex LT MS ^b	hidrólisis ⁱⁱ	24 h (C)	CMI + difusión en agar	cefalosporinas de 3ª generación / cefotaxima	100	91,5	BAJA
Jung 2014 ⁴⁶	48	hemocultivo	E. coli	Microflex LT MS ^b	hidrólisis ⁱⁱ	24 h (C)	CMI	aminopenicilinas / ampicilina	100	100	BAJA
Kempf 2012 ⁴⁷	149	aislados	A. baumannii	Ultraflex I ^b	hidrólisis ⁱⁱ	22 h (C+I)	CMI	carbapenemas / imipenem	100	100	ALTA
Knox 2017 ⁴⁸	129	aislados	Bacilos Gram-negativos	VITEK MS ^a	hidrólisis ⁱⁱ	22 h (C+I)	PCR	carbapenemas / imipenem	98,5	100	INTERMEDIA
Li 2018 ⁴⁹	105	aislados	Bacterias Gram-negativas	VITEK MS ^a	hidrólisis ⁱⁱ	90 min (I)	CMI + difusión en agar	cefalosporinas de 3ª generación / cefotaxima	85,5	88,9	BAJA
Li 2018 ⁴⁹	105	aislados	Bacterias Gram-negativas	VITEK MS ^a	hidrólisis ⁱⁱ	4 h (I)	CMI + difusión en agar	cefalosporinas de 3ª generación / ceftazidima	89,9	94,5	BAJA

→

Fuente	N	Tipo de muestra	Bacteria	Modelo MALDI	Metodología	Tiempo	Prueba de referencia	Resistencia / antibiótico probado	Sens.	Espec.	Calidad del estudio
Monteferrante 2016 ⁷⁷	260	aislados	Enterobacteriaceae	Microflex LT MS ^b	hidrólisis [§]	18 h (C)	difusión en agar	carbapenemas / imipenem	100	100	INTERMEDIA
Oviaño 2017 ⁵¹	100	aislados	Enterobacteriaceae	Microflex LT MS ^b	hidrólisis ^{**}	18 h (C)	PCR + secuenciación	carbapenemas / ceftriaxona	100	100	INTERMEDIA
Oviaño 2017 ⁵¹	100	aislados	Enterobacteriaceae	Microflex LT MS ^b	hidrólisis ^{**}	18 h (C)	PCR + secuenciación	carbapenemas / cefepima	100	27	INTERMEDIA
Oviaño 2017 ⁵	608	urocultivo	E. coli y K. pneumoniae	Microflex LT MS ^b	hidrólisis [§]	90 min (TOT)	CMI	carbapenemas / imipenem	100	100	INTERMEDIA
Yu 2018 ⁵⁰	385	aislados	Enterobacteriaceae	Microflex LT MS ^b	hidrólisis [§]	NE	CMI + PCR	carbapenemas / ertapenem	92,5	100	ALTA
Dortet 2018 ⁷²	175	aislados	Enterobacteriaceae	Microflex LT Biotyper ^b	hidrólisis ^{***}	40 min (I+R)	CMI	carbapenemas / imipenem	100	100	ALTA
Dortet 2018 ⁷²	175	aislados	Enterobacteriaceae	VITEK® MS Plus ^a	hidrólisis ^{****}	80 min (I+R)	CMI	carbapenemas / imipenem	95	100	ALTA
Dortet 2018 ⁷²	175	aislados	Enterobacteriaceae	Microflex LT Biotyper ^b	hidrólisis ^{**}	55 min (I+R)	CMI	carbapenemas / imipenem	100	98,2	ALTA
Rapp 2018 ⁷³	55	aislados	K. pneumoniae, E. coli, A. baumannii, P. aeruginosa, E. cloacae, P. mirabilis	Microflex LT MS ^b	hidrólisis ^{**}	50 min - 2 h 20 min (I+R)	CMI + PCR	carbapenemas / imipenem	91	100	
Hernandez Egido 2018 ¹⁰⁹	56	aislados	E. coli	Autoflex III ^b	hidrólisis ^{§§}	2 h (I)	CMI	fluoroquinolonas / ciprofloxacino	100	97,4	ALTA
Hernandez Egido 2018 ¹⁰⁹	45	aislados	E. coli	Autoflex III ^b	hidrólisis ^{§§}	2 h (I)	CMI	cefalosporinas de 3ª generación / cefotaxima	100	90,5	ALTA

→

Fuente	N	Tipo de muestra	Bacteria	Modelo MALDI	Metodología	Tiempo	Prueba de referencia	Resistencia / antibiótico probado	Sens.	Espec.	Calidad del estudio
Hernandez Egido 2018 ¹⁰⁹	18	hemocultivo	E. coli	Autoflex III ^b	hidrólisis ^{8a}	2 h (I)	CMI	fluoroquinolonas / ciprofloxacino	100	100	ALTA
Hernandez Egido 2018 ¹⁰⁹	17	hemocultivo	E. coli	Autoflex III ^b	hidrólisis ^{8a}	2 h (I)	CMI	cefalosporinas de 3ª generación / cefotaxima	100	91,7	ALTA

(NE) no especificado

Empresas fabricantes: ^aBiomérieux (Marcy-l'Étoile, Francia), ^bBruker Daltonik (Bremen, Alemania), ^cAgena Bioscience™ (San Diego, EEUU)

Kits de hidrólisis comerciales o *in-house*: ^{*}MBT STAR®-Carba IVD Kit (Bruker Daltonics), ^{**}*in-house* Brest, ^{***}*in-house* Colmar, ^{8a}hidrólisis + proteína ribosómica L34

Metodologías denominadas acorde con el punto 3.1 según si detectan: (i) espectros identificativos de cepas resistentes, (ii) producto de hidrólisis del antibiótico o de su acetilación y (iv) cuantificación del crecimiento del microorganismo en presencia/ausencia del antibiótico. No se han encontrado estudios que especifiquen sensibilidad y especificidad para la metodología (iii), basada en la detección de incorporación de ¹³C durante el crecimiento del microorganismo.

Datos de tiempo disponibles en los diferentes estudios para los distintos procesos implicados en la detección de resistencias: (C) cultivo bacteriano, (I) incubación con antibiótico, (ID) identificación de la especie bacteriana, (R) obtención de los resultados de presencia de resistencias antimicrobianas, (TOT) proceso completo: desde recepción muestra hasta análisis de los datos.

^{8a}isoniazida, pirazinamida, etambutol, streptomycin, rifampicina, fluoroquinolona y etionamida.

Calidad del estudio: Alta, presenta menos de dos juicios negativos y/o inciertos; Intermedia, presenta dos juicios negativos y/o inciertos; Baja, presenta tres o más juicios negativos y/o inciertos. Determinada a partir de la herramienta QUADAS-2 (tabla de análisis detallada en el Anexo 1).

8. Evaluación económica

Actualmente no se han encontrado estudios que valoren económicamente la implantación de la tecnología MALDI-TOF para la detección de resistencias en los laboratorios de microbiología clínica del Sistema Nacional de Salud. Sin embargo, se ha demostrado que su uso para esta finalidad resulta **más económico que la detección de resistencias basada en la identificación genética** de las mismas¹¹³, otra tecnología que todavía se encuentra en fase de desarrollo.

9. Impactos

9.1 Impacto en salud

Un informe realizado conjuntamente por el ECDC y la Agencia Europea del Medicamento (EMA por sus siglas en inglés) ya estimó que en 2007 las infecciones por bacterias resistentes causaron la muerte a 25.000 pacientes en la Unión Europea, Noruega e Islandia¹¹⁴. De hecho, en los últimos años se ha producido un incremento preocupante en el número de infecciones provocadas por bacterias resistentes a antibióticos tanto en España como en Europa⁹⁴. Un informe reciente de la OCDE estima que **en Europa, Norte América y Australia podrían morir 2,4 millones de personas entre 2015 y 2050** debido a infecciones causadas por microorganismos resistentes si no se toman medidas para evitarlo⁷. El mismo documento indica que tres de cada cuatro muertes debidas a dichas infecciones se evitarían implementando acciones en los centros sanitarios como promover una prescripción más prudente de los fármacos antibióticos⁷. Asimismo, el informe JIACRA realizado en España también apunta hacia el uso descontrolado de los antibióticos como una de las principales causas de la prevalencia en aumento de microorganismos (multi)resistentes¹¹⁵. De hecho, España se encuentra entre los primeros países del mundo en consumo de antibióticos sin que exista una justificación epidemiológica^{97,116}. Por este motivo, es urgente que los gobiernos se impliquen en actuar inmediata y activamente en esta dirección.

En este contexto, el Programa de Optimización del Uso de Antibióticos (PROA)¹¹⁷, de 2017, enmarcado dentro del Plan Nacional frente a la Resistencia a los Antibióticos pone de manifiesto la “gran necesidad de la optimización del diagnóstico microbiológico” y las limitaciones que actualmente existen en cuanto al acceso y al uso de herramientas diagnósticas adecuadas para llevar a cabo una prescripción empírica del agente antimicrobiano más conveniente a cada patología infecciosa. Por consiguiente, es relevante la implementación de métodos que permitan un diagnóstico rápido de las enfermedades infecciosas (y de hecho es una de las medidas a adoptar dentro de las líneas estratégicas formuladas en el Plan Nacional frente a la Resistencia a los Antibióticos¹¹⁸) junto con el abordaje de las posibles resistencias de las que puedan ser portadores. Asimismo, es importante **promover y facilitar una aplicación óptima y rápida de los tratamientos**, lo que supone no solo **eliminar efectivamente la infección** en el paciente en el menor tiempo posible y así **reducir la mortalidad**^{85,119,120}, sino que además **evita que el patógeno genere nuevas resistencias** que puedan ser transmitidas a otros microorganismos, evitando así el riesgo de aparición y diseminación de enfermedades infecciosas multirresistentes.

9.2 Impacto ético, social, legal, político y cultural de la implantación de la tecnología

El problema de salud en el que interfiere la tecnología es un problema de primer orden político. Asimismo, existe un Plan Nacional frente a la Resistencia a los Antibióticos que detalla las estrategias a nivel sanitario planificadas actualmente en esta dirección en el Sistema Nacional de Salud. Sin menospreciar la alta relevancia del mismo, el plan actual aún no contempla aspectos como un plan de acción para ámbitos específicos asociados con la detección de resistencias. Este ámbito concreto impactaría en la agenda política y estaría relacionado directamente con la tecnología evaluada.

La cultura asistencial actual relacionada con los antibióticos está asociada a una cobertura poco específica y que no contempla suficientemente las resistencias en el primer estadio de la asignación de tratamientos. La implementación de la tecnología MALDI-TOF en esta fase inicial, permitiría combatir desde un principio las potenciales resistencias antimicrobianas, e implicaría por tanto un cambio de paradigma en el manejo. Cabe destacar que dichos hándicaps se ven acentuados por el problema cultural general en cuanto a la utilización de antibióticos tanto en atención primaria, como por parte de los mismos pacientes y también de la industria agropecuaria.

9.3 Impacto económico de la tecnología

Las infecciones causadas por microorganismos resistentes a los antibióticos suponen una elevada carga económica para los sistemas de salud¹²¹⁻¹²³. El informe conjunto del ECDC y la EMA publicado en 2009 ya estimó en 1500 millones de euros anuales el coste para la sociedad europea derivado de las infecciones provocadas por microorganismos resistentes. El estudio es completo y considera múltiples factores, desde 10 millones de euros en consultas externas a más de 150 millones anuales de pérdida de productividad por ausencias en el lugar de trabajo¹¹⁴. Los costes debidos a pérdida de productividad provocada por la mortalidad asociada a la infección se estimó en 450 millones de euros¹¹⁴. Más recientemente, el estudio de la OCDE mencionado en apartados anteriores (2018) estimó que las complicaciones derivadas de dichas infecciones pueden llegar a costar una media de \$3500 millones anuales a sus países miembros, lo que equivale al 10% del total de los costes sanitarios derivados de enfermedades infecciosas⁷. Dicho estudio indica que este sobre coste viene dado por pruebas diagnósticas adicionales, incremento de la estancia hospitalaria (más del 50% de los costes adicionales), y el uso de fármacos antibióticos de segunda línea o combinaciones de ellos.

Concretamente, en España, teniendo en cuenta los 180.600 pacientes infectados por bacterias resistentes estimados para el 2018 por el estudio realizado por la SEIMC⁹¹ por un lado, y el sobre coste aproximado de 1100 € por paciente que sufre una infección resistente a antibióticos estimado por un estudio de Touat y colaboradores (realizado a partir de datos de la Direction Générale de la Santé de Francia de 2012)⁹² por el otro, se podría considerar que el sobre coste anual para el Sistema Sanitario Español provocado por estas infecciones sería de aproximadamente 200 millones de euros. Cabe recalcar que Touat y colaboradores calcularon dicho sobre coste en base al incremento en el tiempo de hospitalización de los pacientes, el cual se estimó en $1,6 \pm 16$ días adicionales⁹², por lo que el sobre coste real, considerando las demás variables, probablemente sea superior, tal y como indica el estudio de la OCDE⁷.

Por todo ello, cada vez es más habitual la implementación de programas de gestión del uso de antimicrobianos en los hospitales y centros sanitarios, los cuales se ha observado que resultan coste-efectivos¹²⁴, y se estima que suponen un ahorro de \$1,5 por cada dólar invertido⁷. Precisamente, una de las medidas que se contempla en estos programas es la mejora en el diagnóstico de las enfermedades infecciosas¹¹⁷, lo que podría incluir la detección rápida de resistencias antimicrobianas mediante MALDI-TOF.

No se han encontrado estudios que valoren específicamente el impacto económico que tendría, sobre los costes indicados, identificar mediante MALDI-TOF resistencias a antibióticos en pacientes con enfermedades infecciosas. No obstante, vale la pena mencionar que hay evidencias de que la tecnología permite reducir los costes de identificación de los microorganismos causantes de dichas enfermedades en los hospitales^{31,125,126}, especialmente cuando su implementación va acompañada de un programa de gestión del uso de antimicrobianos^{119,120,127}. Esto, además de disminuir la mortalidad asociada a la infección^{85,119}, genera un ahorro asociado principalmente a la estancia hospitalaria (1,6-6,6 días dependiendo del tipo de paciente y unidad)³¹. Así, por ejemplo, la aplicación de dicha combinación en el Sistema Sanitario supondría un ahorro para los hospitales de hasta \$2439 por paciente según Patel y colaboradores¹¹⁹, de \$3411 según Lockwood y colaboradores¹²⁰ o de \$19.547²⁸ y de \$26.298⁸⁵ por cada paciente según los estudios de Perez y colaboradores. Por otro lado, calculado por año ganado ajustado por calidad de vida (AVAC), el ahorro subiría hasta \$29.205 según Pliakos y colaboradores¹²⁷.

10. Difusión e introducción esperada de la tecnología

Dado que la tecnología actualmente ya se encuentra en uso en más de un 60% de los laboratorios de microbiología clínica de los hospitales españoles para su aplicación en el diagnóstico rápido de enfermedades infecciosas, y que **la metodología para el análisis de sensibilidad y resistencias antimicrobianas mediante MALDI-TOF implicaría añadir un número reducido de pasos a los protocolos en uso, sería esperable que su aplicación fuera fácilmente extensible a este fin dentro del procedimiento diagnóstico de rutina de estas enfermedades.** Precisamente, el PROA indica que una de las medidas prioritarias para mejorar el uso de los antibióticos, sobre todo en los hospitales, es la optimización del diagnóstico de las enfermedades infecciosas, ya que una de las dificultades detectadas en el Sistema Sanitario Español es una “disponibilidad o acceso limitado a técnicas de diagnóstico microbiológico”¹¹⁷. Esto vendría especialmente facilitado si salieran al mercado metodologías comerciales basadas en la espectrometría de masas por MALDI-TOF preparadas para su uso dentro del ámbito de la microbiología clínica (como el MBT STAR-Carba Assay de Bruker Daltonik), y por el desarrollo de protocolos preparados para el análisis directo (sin necesidad de cultivo previo del microorganismo) a partir de muestras de pacientes.

No obstante, si bien los valores de sensibilidad y especificidad encontrados en la evidencia disponible (ver punto 6.2) validaría la implementación de la espectrometría de masas MALDI-TOF como prueba clave en el proceso de determinación de resistencias y análisis de sensibilidad antimicrobiano, dada la calidad metodológica de los estudios y bajo unos paradigmas de uso prudente de la innovación, **la práctica clínica más esperable a corto-medio plazo para esta tecnología sería, conjuntamente con las pruebas de sensibilidad convencionales (CMI y difusión en agar), como método confirmatorio de la presencia de resistencias en patógenos previamente identificados.**

11. Recomendaciones e investigación en curso

11.1 Investigación en curso

Los principales objetivos de la investigación experimental que actualmente se está llevando a cabo sobre la detección de resistencias microbianas mediante MALDI-TOF son: (i) optimizar los protocolos para **minimizar el tiempo de preparación de la muestra** (incluido el cultivo del microorganismo)^{5,61,68,69,73,74}, (ii) incrementar el número de resistencias y antibióticos analizables^{2,42,51}, (iii) diseñar protocolos que permitan la **identificación simultánea de varias resistencias** en distintos microorganismos^{2,69,129}, (iv) mejorar los protocolos existentes para que sea posible trabajar **directamente a partir de muestras de pacientes**^{5,6}, incluso aquellos que padecen una infección provocada por más de un patógeno, y (v) **dotar las bases de datos** de información que permita mejorar la capacidad de identificación de las mismas en cuanto a precisión y a número de resistencias y de patógenos identificables⁷⁸⁻⁸⁰. Cabe destacar que no se han encontrado ensayos clínicos en marcha en este momento

11.2 Guías y directrices

No se han encontrado directrices, guías ni recomendaciones en cuanto al uso de los espectrómetros de masas en los laboratorios de microbiología clínica para la detección de resistencias más allá de los manuales que los fabricantes ponen a disposición de los usuarios. Si bien cabe destacar que la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC), dentro de sus recomendaciones sobre **Métodos microbiológicos para la vigilancia del estado de portador de bacterias multirresistentes** destaca la potencial aplicabilidad de la tecnología MALDI-TOF para la detección de resistencias en los laboratorios de microbiología clínica¹². De hecho, de acuerdo con los expertos consultados durante la elaboración del informe, en breve estará disponible un protocolo, elaborado por la SEIMC, para el uso de la espectrometría de masas MALDI-TOF para análisis de infecciones en microbiología clínica.

Sin embargo, a partir de los distintos estudios experimentales consultados para el presente informe, se destacan las siguientes recomendaciones metodológicas para el uso de MALDI-TOF para la identificación de resistencias y análisis de sensibilidad antimicrobianos:

- Matriz. La naturaleza de la matriz (el compuesto que protege las moléculas analizadas del láser y ayuda a su ionización) puede interferir en la detección de ciertas resistencias. Por ejemplo, en el caso de la detección de β -lactamasas la matriz estándar usada para la detección de microorganismos, CHCA, genera un dímero que se observa a una m/z de 380, muy similar, por ejemplo, al pico que produce el meropenem intacto ($384,5 m/z$)¹³⁰. Por tanto, debe utilizarse otra matriz, como el ácido dihidrobenzoico¹³¹.
- Rango m/z analizado
- Preparación de la muestra.
 - Medio de cultivo. Puede provocar excesivo ruido de fondo impidiendo la clara identificación de los espectros.
 - Tiempo de cultivo del microorganismo con/sin antibiótico. Un tiempo insuficiente o excesivo de cultivo puede dar lugar a un contenido molecular por debajo o por encima de los límites de resolución de la tecnología.

11.3 Puntos clave

- Sería conveniente disponer de estudios clínicos aleatorizados y a ciegas realizados en el ámbito español (o, en su defecto, europeo) que valoren la especificidad y sensibilidad de la técnica en un número suficientemente elevado de muestras de pacientes como para establecer estimaciones adecuadas en cuanto a sensibilidad y especificidad.
- Se requiere la elaboración de bases de datos que permitan ampliar y evaluar con alta precisión el elenco de microorganismos y resistencias detectables actualmente.
- Es imprescindible la elaboración de protocolos estandarizados, validados y efectivos. Los existentes hoy día en la literatura son altamente heterogéneos, básicamente porque proceden de estudios experimentales.
- Se requieren estudios del impacto de la integración de esta tecnología en la marcha del laboratorio (*workflow*) y en los protocolos actuales.
- Se recomienda realizar algún estudio de impacto presupuestario o coste-efectividad de la implementación, idealmente, asociados a ensayos (*piggy-back trials*).
- A continuación, se listan distintas variables de resultado operativas para futuras evaluaciones de la implementación de la detección de re-

sistencias antimicrobianas mediante espectrometría de masas MALDI-TOF.

1. Sensibilidad y especificidad de las resistencias detectadas
2. Reproducibilidad de los resultados: inter- e intra-laboratorios
3. Tiempo de obtención de los resultados: inferior/superior a 24-48 horas
4. Elenco de microorganismos sobre el que es aplicable: número grande/reducido; microorganismos considerados prioritarios
5. Nivel de conocimientos técnicos necesarios: existencia de tecnologías/protocolos comerciales diseñados para microbiología clínica; requerimiento de personal especializado
6. Tiempo efectivo de técnico empleado
7. Eliminación de otras técnicas o mantenimiento de las anteriores
8. Coste por muestra analizada
9. Impacto sobre el paciente

12. Referencias

1. Ventola CL. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *P T*. 2015;40(4):277-283. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25859123>. Accessed October 18, 2018.
2. Oviaño M, Bou G. Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry for the Rapid Detection of Antimicrobial Resistance Mechanisms and Beyond. *Clin Microbiol Rev*. 2019;32(1). doi:10.1128/CMR.00037-18
3. MBT STAR-Carba Kit IVD - IVD-CE Certified MALDI Biotyper | Bruker. <https://www.bruker.com/products/mass-spectrometry-and-separations/ivd-ce-certified-maldi-biotyper/mbt-star-carba-kit-ivd.html>. Accessed November 5, 2018.
4. Patel R. New Developments in Clinical Bacteriology Laboratories. *Mayo Clin Proc*. 2016;91(10):1448-1459. doi:10.1016/J.MAYOCP.2016.06.020
5. Oviaño M, de la Luna Ramirez C, Pedro Barbeyto L, et al. Rapid direct detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in clinical urine samples by MALDI-TOF MS analysis. *J Antimicrob Chemother*. 2017;72(5):1350-1354. doi:10.1093/jac/dkw579
6. Su K-Y, Yan B-S, Chiu H-C, et al. Rapid Sputum Multiplex Detection of the Mycobacterium tuberculosis Complex (MTBC) and Resistance Mutations for Eight Antibiotics by Nucleotide MALDI-TOF MS. *Sci Rep*. 2017;7. doi:10.1038/srep41486
7. OECD. *Stemming the Superbug Tide: Just A Few Dollars More*. Paris: OECD Publishing; 2018. doi:10.1787/9789264307599-en
8. Viswanathan V. Off-label abuse of antibiotics by bacteria. *Gut Microbes*. 2014;5(1):3-4. doi:10.4161/gmic.28027
9. Andersson DI, Hughes D. Selection and Transmission of Antibiotic-Resistant Bacteria. *Microbiol Spectr*. 2017;5(4). doi:10.1128/microbiolspec.MTBP-0013-2016
10. World Health Organization (WHO). *Global Priority List of Antibiotic-Resistant Bacteria to Guide Research, Discovery, and Development of New Antibiotics*. World Health Organization; 2017. <http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013/>. Accessed October 22, 2018.
11. Vila J, Gómez MD, Salavert M, Bosch J. Métodos de diagnóstico rápido en microbiología clínica: necesidades clínicas. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2017;35(1):41-46. doi:10.1016/j.eimc.2016.11.004
12. Bou Arevalo, Germán; Chaves Sánchez, Fernando; Oliver Palomo, Antonio; Oteo Iglesias J. Métodos microbiológicos para la vigilancia del estado de portador de bacterias multirresistentes. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla, E; Cantón Moreno R, ed. *Procedimientos en Microbiol Clínica Soc Española Enfermedades Infecc y Microbiol Clínica*. 2015;(55). www.seimc.org. Accessed November 7, 2018.
13. The Center for Disease Dynamics E and P. ResistanceMap - Antibiotic Resistance. <https://resistancemap.cddep.org/AntibioticResistance.php>. Accessed November 8, 2018.

14. Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health. *MALDI-TOF Mass Spectrometry for Bacterial Species Identification: A Review of Diagnostic Accuracy and Clinical and Cost-Effectiveness.*; 2011. https://www.cadth.ca/media/pdf/htis/april-2011/L0259_MALDI-TOF_Final.pdf. Accessed November 6, 2018.
15. Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health. *MALDI-TOF Mass Spectrometry for Pathogen Identification: A Review of Accuracy and Clinical Effectiveness | CADTH.Ca.*; 2015. <https://www.cadth.ca/maldi-tof-mass-spectrometry-pathogen-identification-review-accuracy-and-clinical-effectiveness>. Accessed October 26, 2018.
16. National Institute for Health and Care Excellence (NICE). *Tests for Rapidly Identifying Bloodstream Bacteria and Fungi (LightCycler SeptiFast Test MGRADE, Sepsitest and IRIDICA BAC BSI Assay) Clinical Practice Guidelines.*; 2016. <https://www.guidelinecentral.com/summaries/tests-for-rapidly-identifying-bloodstream-bacteria-and-fungi-lightcycler-septifast-test-mgrade-sepsitest-and-iridica-bac-bsi-assay/>. Accessed October 24, 2018.
17. Fernández Olmos, Ana; García de la Fuente, Celia; Saéz Nieto, Juan Antonio; Valdezate Ramos S. Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. *Procedimientos en Microbiol Clínica Soc Española Enfermedades Infecc y Microbiol Clínica.* 2010;(37). <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia37.pdf>. Accessed November 8, 2018.
18. Cantón Lacasa, Emilia; García Rodríguez, Julio; Guinea Ortega, Jesús Vicente; Martín Mazuelos, Estrella; Pemán García J. Métodos microbiológicos para el diagnóstico, manejo y estudio de la infección fúngica invasora. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. *Procedimientos en Microbiol Clínica Soc Española Enfermedades Infecc y Microbiol Clínica.* 2012;(45). <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia45.pdf>. Accessed November 8, 2018.
19. Siller-Ruiz M, Hernández-Egido S, Sánchez-Juanes F, González-Buitrago JM, Muñoz-Bellido JL. Métodos rápidos de identificación de bacterias y hongos. Espectrometría de masas MALDI-TOF, medios cromogénicos. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2017;35(5):303-313. doi:10.1016/j.eimc.2016.12.010
20. Vila J, Zboromyrska Y, Burillo A, Bouza E. Perspectivas de futuro de la espectrometría de masas en microbiología. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2016;34:53-58. doi:10.1016/S0213-005X(16)30192-6
21. Singhal N, Kumar M, Kanaujia PK, Viridi JS. MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis. *Front Microbiol.* 2015;6:791. doi:10.3389/fmicb.2015.00791
22. Ratcliffe P, Fang H, Thidholm E, Boräng S, Westling K, Özenci V. Comparison of MALDI-TOF MS and VITEK 2 system for laboratory diagnosis of *Granulicatella* and *Abiotrophia* species causing invasive infections. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2013;77(3):216-219. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2013.07.008
23. Schroettner P, Rudolph WW, Eing BR, Bertram S, Gunzer F. Comparison of VITEK2, MALDI-TOF MS, and 16S rDNA sequencing for identification of *Myroides odoratus* and *Myroides odoratimimus*. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2014;79(2):155-159. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2014.02.002

24. Guo L, Ye L, Zhao Q, Ma Y, Yang J, Luo Y. Comparative study of MALDI-TOF MS and VITEK 2 in bacteria identification. *J Thorac Dis.* 2014;6(5):534-538. doi:10.3978/j.issn.2072-1439.2014.02.18
25. Saffert RT, Cunningham SA, Ihde SM, Jobe KEM, Mandrekar J, Patel R. Comparison of Bruker Biotyper matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometer to BD Phoenix automated microbiology system for identification of gram-negative bacilli. *J Clin Microbiol.* 2011;49(3):887-892. doi:10.1128/JCM.01890-10
26. El-Bouri K, Johnston S, Rees E, et al. Comparison of bacterial identification by MALDI-TOF mass spectrometry and conventional diagnostic microbiology methods: agreement, speed and cost implications. *Br J Biomed Sci.* 2012;69(2):47-55. doi:10.1080/09674845.2012.12002436
27. Cho Y-T, Su H, Wu W-J, et al. Biomarker Characterization by MALDI-TOF/MS. In: *Advances in Clinical Chemistry.* Vol 69. ; 2015:209-254. doi:10.1016/bs.acc.2015.01.001
28. Zhang L, Smart S, Sandrin TR. Biomarker- and similarity coefficient-based approaches to bacterial mixture characterization using matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). *Sci Rep.* 2015;5(1):15834. doi:10.1038/srep15834
29. Oviaño M, Dolores Rojo M, Navarro Mari JM, Bou G. Rapid detection of antimicrobial resistance by MALDI-TOF mass spectrometry TT - Detección rápida de resistencias antimicrobianas mediante espectrometría de masas MALDI-TOF. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2016;34 Suppl 2:36-41. doi:10.1016/s0213-005x(16)30189-6
30. Burckhardt I, Zimmermann S. Susceptibility Testing of Bacteria Using MALDI-TOF Mass Spectrometry. *Front Microbiol.* 2018;9:1744. doi:10.3389/fmicb.2018.01744
31. de la Pedrosa EGG, Gimeno C, Soriano A, Canton R. Estudios de coste-efectividad con MALDI-TOF e impacto clínico. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2016;34 Suppl 2:47-52. doi:10.1016/s0213-005x(16)30191-4
32. Muñoz Bellido JL, González Buitrago JM. Espectrometría de masas MALDI-TOF en microbiología clínica. Situación actual y perspectivas futuras. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2015;33(6):369-371. doi:10.1016/j.eimc.2015.02.016
33. EDWARDS-JONES V, CLAYDON MA, WALKER J, FOX AJ, EVASON DJ, GORDON DB. Rapid discrimination between methicillin-sensitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by intact cell mass spectrometry. *J Med Microbiol.* 2000;49(3):295-300. doi:10.1099/0022-1317-49-3-295
34. Du Z, Yang R, Guo Z, Song Y, Wang J. Identification of *Staphylococcus aureus* and Determination of Its Methicillin Resistance by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Anal Chem.* 2002;74(21):5487-5491. doi:10.1021/ac020109k
35. Josten M, Dischinger J, Szekat C, et al. Identification of agr-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* harbouring the class A mec complex by MALDI-TOF mass spectrometry. *Int J Med Microbiol.* 2014;304(8):1018-1023. doi:10.1016/j.ijmm.2014.07.005
36. Bernardo K, Fleer S, Pakulat N, Krut O, Hüniger F, Krönke M. Identification of *Staphylococcus aureus* exotoxins by combined sodium dodecyl sulfate gel electrophoresis and matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass

- spectrometry. *Proteomics*. 2002;2(6):740-746. doi:10.1002/1615-9861(200206)2:6<740::AID-PROT740>3.0.CO;2-M
37. Szabados F, Kaase M, Anders A, Gatermann SGSG. Identical MALDI TOF MS-derived peak profiles in a pair of isogenic SCCmec-harboring and SCCmec-lacking strains of *Staphylococcus aureus*. *J Infect*. 2012;65(5):400-405. doi:10.1016/j.jinf.2012.06.010
 38. Youn J-H, Drake SK, Weingarten RA, Frank KM, Dekker JP, Lau AF. Clinical Performance of a Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry Method for Detection of Certain blaKPC-Containing Plasmids. Tang Y-W, ed. 2016;54(1):35-42. doi:10.1128/JCM.01643-15
 39. Hart PJ, Wey E, McHugh TD, Balakrishnan I, Belgacem O. A method for the detection of antibiotic resistance markers in clinical strains of *Escherichia coli* using MALDI mass spectrometry. *J Microbiol Methods*. 2015;111:1-8. doi:10.1016/J.MIMET.2015.01.020
 40. Papagiannitsis CC, Kotsakis SD, Tuma Z, Gniadkowski M, Miriagou V, Hrabak J. Identification of CMY-2-Type Cephalosporinases in Clinical Isolates of Enterobacteriaceae by MALDI-TOF MS. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58(5):2952-2957. doi:10.1128/aac.02418-13
 41. Paul S, Singh P, Shamanth AS, Rudramurthy SM, Chakrabarti A, Ghosh AK. Rapid detection of fluconazole resistance in *Candida tropicalis* by MALDI-TOF MS. *Med Mycol*. 2018;56(2):234-241. doi:10.1093/mmy/myx042
 42. Oviaño M, Sparbier K, Barba MJ, Kostrzewa M, Bou G. Universal protocol for the rapid automated detection of carbapenem-resistant Gram-negative bacilli directly from blood cultures by matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF/MS). *Int J Antimicrob Agents*. 2016;48(6):655-660. doi:10.1016/j.ijantimicag.2016.08.024
 43. Burckhardt I, Zimmermann S. Using matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry to detect carbapenem resistance within 1 to 2.5 hours. *J Clin Microbiol*. 2011;49(9):3321-3324. doi:10.1128/jcm.00287-11
 44. Hoyos-Mallescot Y, Cabrera-Alvargonzalez JJ, Miranda-Casas C, Rojo-Martín MD, Liebana-Martos C, Navarro-Marí JM. MALDI-TOF MS, a useful instrument for differentiating metallo-β-lactamases in Enterobacteriaceae and *Pseudomonas* spp. *Lett Appl Microbiol*. 2014;58(4):325-329. doi:10.1111/lam.12203
 45. Hrabák J. Detection of carbapenemases using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (Maldi-tof ms) meropenem hydrolysis assay. *Methods Mol Biol*. 2015;1237:91-96. doi:10.1007/978-1-4939-1776-1_9
 46. Jung JS, Popp C, Sparbier K, Lange C, Kostrzewa M, Schubert S. Evaluation of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry for Rapid Detection of beta-Lactam Resistance in Enterobacteriaceae Derived from Blood Cultures. *J Clin Microbiol*. 2014;52(3):924-930. doi:10.1128/jcm.02691-13
 47. Kempf M, Bakour S, Flaudrops C, et al. Rapid detection of carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii* using matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *PLoS One*. 2012;7(2):e31676. doi:10.1371/journal.pone.0031676
 48. Knox J, Palombo E. Performance of a MALDI-TOF MS-based imipenem hydrolysis assay incorporating zinc sulfate. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2017;87(3):258-260. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2016.11.018

49. Li C, Ding S, Huang Y, et al. Detection of AmpC beta-lactamase-producing Gram-negative bacteria by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *J Hosp Infect.* 2018;99(2):200-207. doi:10.1016/j.jhin.2017.11.010
50. Yu J, Liu J, Li Y, et al. Rapid detection of carbapenemase activity of Enterobacteriaceae isolated from positive blood cultures by MALDI-TOF MS. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2018;17. doi:10.1186/s12941-018-0274-9
51. Oviaño M, Gómara M, Barba MJ, Revillo MJ, Barbeyto LP, Bou G. Towards the early detection of β -lactamase-producing Enterobacteriaceae by MALDI-TOF MS analysis. *J Antimicrob Chemother.* 2017;72(8):2259-2262. doi:10.1093/jac/dkx127
52. Lee AWT, Lam JKS, Lam RKW, et al. Comprehensive Evaluation of the MBT STAR-BL Module for Simultaneous Bacterial Identification and β -Lactamase-Mediated Resistance Detection in Gram-Negative Rods from Cultured Isolates and Positive Blood Cultures. *Front Microbiol.* 2018;9. doi:10.3389/fmicb.2018.00334
53. Ramos S, Silva N, Hebraud M, et al. Proteomics for Drug Resistance on the Food Chain? Multidrug-Resistant *Escherichia coli* Proteomes from Slaughtered Pigs. *OmicS.* 2016;20(6):362-374. doi:10.1089/omi.2016.0044
54. Johansson A, Nagy E, Soki J, SÓki J, Nagy E, Johansson Å. Instant screening and verification of carbapenemase activity in *Bacteroides fragilis* in positive blood culture, using matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Med Microbiol.* 2014;63(8):1105-1110. doi:10.1099/jmm.0.075465-0
55. Johansson A, Nagy E, Soki J, et al. Detection of carbapenemase activities of *Bacteroides fragilis* strains with matrix-assisted laser desorption ionization - Time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). *Anaerobe.* 2014;26:49-52. doi:10.1016/j.anaerobe.2014.01.006
56. Ghebremedhin B, Halstenbach A, Smiljanic M, Kaase M, Ahmad-Nejad P. MALDI-TOF MS based carbapenemase detection from culture isolates and from positive blood culture vials. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2016;15. doi:10.1186/s12941-016-0120-x
57. Sparbier K, Schubert S, Weller U, Boogen C, Kostrzewa M. Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry-Based Functional Assay for Rapid Detection of Resistance against β -Lactam Antibiotics. *J Clin Microbiol.* 2012;50(3):927-937. doi:10.1128/JCM.05737-11
58. Rotova V, Papagiannitsis CC, Skalova A, Chudejova K, Hrabak J. Comparison of imipenem and meropenem antibiotics for the MALDI-TOF MS detection of carbapenemase activity. *J Microbiol Methods.* 2017;137:30-33. doi:10.1016/j.mimet.2017.04.003
59. Lange C, Schubert S, Jung J, Kostrzewa M, Sparbier K. Quantitative Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry for Rapid Resistance Detection. *J Clin Microbiol.* 2014;52(12):4155-4162. doi:10.1128/JCM.01872-14
60. Pardo C-AA, Tan RN, Hennequin C, Beyrouthy R, Bonnet R, Robin F. Rapid detection of AAC(6')-Ib-cr production using a MALDI-TOF MS strategy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2016;35(12):2047-2051. doi:10.1007/s10096-016-2762-1

61. Oviaño M, Rodríguez-Martínez JM, Pascual A, et al. Rapid detection of the plasmid-mediated quinolone resistance determinant AAC(6')-Ib-cr in Enterobacteriaceae by MALDI-TOF MS analysis. *J Antimicrob Chemother.* 2017;72(4):1074-1080. doi:10.1093/jac/dkw552
62. Demirev PA, Hagan NS, Antoine MD, Lin JS, Feldman AB. Establishing Drug Resistance in Microorganisms by Mass Spectrometry. *J Am Soc Mass Spectrom.* 2013;24(8):1194-1201. doi:10.1007/s13361-013-0609-x
63. Sparbier K, Lange C, Jung J, Wieser A, Schubert S, Kostrzewa M. MALDI Biotyper-Based Rapid Resistance Detection by Stable-Isotope Labeling. *J Clin Microbiol.* 2013;51(11):3741-3748. doi:10.1128/JCM.01536-13
64. Jung JS, Eberl T, Sparbier K, et al. Rapid detection of antibiotic resistance based on mass spectrometry and stable isotopes. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2014;33(6):949-955. doi:10.1007/s10096-013-2031-5
65. Jung JS, Hamacher C, Gross B, et al. Evaluation of a Semiquantitative Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry Method for Rapid Antimicrobial Susceptibility Testing of Positive Blood Cultures. Bourbeau P, ed. *J Clin Microbiol.* 2016;54(11):2820-2824. doi:10.1128/jcm.01131-16
66. Justesen US, Acar Z, Sydenham TV, Johansson Å. Antimicrobial susceptibility testing of *Bacteroides fragilis* using the MALDI Biotyper antibiotic susceptibility test rapid assay (MBT-ASTRA). *Anaerobe.* March 2018. doi:10.1016/j.anaerobe.2018.02.007
67. Maxson T, Taylor-Howell CL, Minogue TD. Semi-quantitative MALDI-TOF for antimicrobial susceptibility testing in *Staphylococcus aureus*. *PLoS One.* 2017;12(8). doi:10.1371/journal.pone.0183899
68. Idelevich EA, Storck LM, Sparbier K, Drews O, Kostrzewa M, Becker K. Rapid Direct Susceptibility Testing from Positive Blood Cultures by the Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry-Based Direct-on-Target Microdroplet Growth Assay. *J Clin Microbiol.* 2018;56(10):e00913-18. doi:10.1128/JCM.00913-18
69. Idelevich EA, Sparbier K, Kostrzewa M, Becker K. Rapid detection of antibiotic resistance by MALDI-TOF mass spectrometry using a novel direct-on-target microdroplet growth assay. *Clin Microbiol Infect.* 2018;24(7):738-743. doi:10.1016/j.cmi.2017.10.016
70. Sauguet M, Bertrand X, Hocquet D. Rapid antibiotic susceptibility testing on blood cultures using MALDI-TOF MS. Becker K, ed. *PLoS One.* 2018;13(10):e0205603. doi:10.1371/journal.pone.0205603
71. Ceysens P-J, Soetaert K, Timke M, et al. Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry for Combined Species Identification and Drug Sensitivity Testing in Mycobacteria. *J Clin Microbiol.* 2017;55(2):624-634. doi:10.1128/JCM.02089-16
72. Dortet L, Tandé D, de Briel D, et al. MALDI-TOF for the rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: comparison of the commercialized MBT STAR®-Carba IVD Kit with two in-house MALDI-TOF techniques and the RAPIDEC® CARBA NP. *J Antimicrob Chemother.* 2018;73(9):2352-2359. doi:10.1093/jac/dky209

73. Rapp E, Samuelsen Ø, Sundqvist M. Detection of carbapenemases with a newly developed commercial assay using Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight. *J Microbiol Methods*. 2018;146:37-39. doi:10.1016/J.MI-MET.2018.01.008
74. Cordovana M, Kostrzewa M, Sóki J, Witt E, Ambretti S, Pranada AB. Bacteroides fragilis: A whole MALDI-based workflow from identification to confirmation of carbapenemase production for routine laboratories. *Anaerobe*. April 2018. doi:10.1016/J.ANAEROBE.2018.04.004
75. Jeon YD, Seong H, Kim D, et al. Impact of matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometric evaluation on the clinical outcomes of patients with bacteremia and fungemia in clinical settings lacking an antimicrobial stewardship program: a pre-post quasi experimental study. *BMC Infect Dis*. 2018;18(1):385. doi:10.1186/s12879-018-3299-y
76. De Carolis E, Paoletti S, Nagel D, et al. A rapid diagnostic workflow for cefotaxime-resistant Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae detection from blood cultures by MALDI-TOF mass spectrometry. *PLoS One*. 2017;12(10). doi:10.1371/journal.pone.0185935
77. Monteferrante CG, Sultan S, ten Kate MT, et al. Evaluation of different pre-treatment protocols to detect accurately clinical carbapenemase-producing Enterobacteriaceae by MALDI-TOF. *J Antimicrob Chemother*. 2016;71(10):2856-2867. doi:10.1093/jac/dkw208
78. Rudrik JT, Soehlen MK, Perry MJ, et al. Safety and Accuracy of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry for Identification of Highly Pathogenic Organisms. *J Clin Microbiol*. 2017;55(12):3513-3529. doi:10.1128/JCM.01023-17
79. Lasch P, Wahab T, Weil S, et al. Identification of Highly Pathogenic Microorganisms by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry: Results of an Interlaboratory Ring Trial. *J Clin Microbiol*. 2015;53(8):2632-2640. doi:10.1128/JCM.00813-15
80. Tracz DM, Antonation KS, Corbett CR. Verification of a Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry Method for Diagnostic Identification of High-Consequence Bacterial Pathogens. *J Clin Microbiol*. 2016;54(3):764-767. doi:10.1128/JCM.02709-15
81. Andrews JM. Determination of minimum inhibitory concentrations. *J Antimicrob Chemother*. 2001;48(suppl_1):5-16. doi:10.1093/jac/48.suppl_1.5
82. Cavalleri, S J; Harbeck, R J; McCarter, Y S; Ortez, J H; Rankin, I D; Sautter, R I; Sharp, S E; Spiegel CA. *Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana.*; 2005. <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2005/susceptibilidad-antimicrobiana-manual-pruebas-2005.pdf>. Accessed October 31, 2018.
83. Carlos Rodríguez J, Ángel Bratos M, Merino E, Ezpeleta C. Utilización de MALDI-TOF en el diagnóstico rápido de la sepsis. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2016;34:19-25. doi:10.1016/S0213-005X(16)30186-0
84. Timbrook TT, Spivak ES, Hanson KE. Current and Future Opportunities for Rapid Diagnostics in Antimicrobial Stewardship. *Med Clin North Am*. 2018;102(5):899-911. doi:10.1016/j.mcna.2018.05.004
85. Perez KK, Olsen RJ, Musick WL, et al. Integrating rapid diagnostics and antimicrobial stewardship improves outcomes in patients with antibiotic-resistant

- Gram-negative bacteremia. *J Infect.* 2014;69(3):216-225. doi:10.1016/j.jinf.2014.05.005
86. Ge M-C, Kuo A-J, Liu K-L, et al. Routine identification of microorganisms by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry: Success rate, economic analysis, and clinical outcome. *J Microbiol Immunol Infect.* 2017;50(5):662-668. doi:10.1016/J.JMII.2016.06.002
 87. Li M, Liu M, Song Q, et al. Rapid antimicrobial susceptibility testing by matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry using a qualitative method in *Acinetobacter baumannii* complex. *J Microbiol Methods.* 2018;153:60-65. doi:10.1016/j.mimet.2018.09.002
 88. Oviaño M, Barba MJ, Fernández B, et al. Rapid Detection of OXA-48-Producing Enterobacteriaceae by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry. *J Clin Microbiol.* 2016;54(3):754-759. doi:10.1128/JCM.02496-15
 89. Public Health England. *UK Standards for Microbiology Investigations-Standards-for-Microbiology-Investigations-Smi-Quality-and-Consistency-in-Clinical-Laboratories PHE Publications Gateway Number: 2016377 UK Standards for Microbiology Investigations Are Produced in Association With.*; 2016. https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/559962/TP_40i1.pdf. Accessed October 19, 2018.
 90. Área de Inteligencia de Gestión - Ministerio de Sanidad C y BSG de E. Consulta Interactiva del SNS. <http://pestadistico.inteligenciadegestion.msssi.es/publicoSNS/comun/DefaultPublico.aspx>. Accessed November 21, 2018.
 91. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. *Registro Hospitalario de Pacientes Afectados Por Las Resistencias Bacterianas.*; 2018. https://seimc.org/contenidos/noticias/2018/seimc-Registro_de_Pacientes_BMR.pdf. Accessed October 31, 2018.
 92. Touat, M; Opatowski, M; Brun-Buisson, C; Guillemot, D; Salomon, J; Tuppin, P; de Lagasnerie, G; Watier L. Hospital inpatient additional care costs of antimicrobial resistance in France: a matched case-control study. *Poster ISPOR Eur 2018 [handout data]*. 2018.
 93. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Data from the ECDC Surveillance Atlas - Antimicrobial resistance. <https://ecdc.europa.eu/en/antimicrobial-resistance/surveillance-and-disease-data/data-ecdc>. Accessed November 19, 2018.
 94. European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe – Annual report of the European Antimicrobial Resistance. *Surveill Netw 2017.* 2018;(Stockholm: ECDC). doi:10.2900/230516
 95. Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, et al. Novel Carbapenem-Hydrolyzing β -Lactamase, KPC-1, from a Carbapenem-Resistant Strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001;45(4):1151-1161. doi:10.1128/AAC.45.4.1151-1161.2001
 96. Cassini A, Högberg LD, Plachouras D, et al. Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis. *Lancet Infect Dis.* 2018;0(0). doi:10.1016/S1473-3099(18)30605-4
 97. OECD. *Antimicrobial Resistance - Policy Insights.*; 2016. www.oecd.org/health/antimicrobial-resistance.htm. Accessed November 15, 2018.

98. Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM). *Las Cifras Del Cáncer En España 2018.*; 2018. https://seom.org/seomcms/images/stories/recursos/Las_Cifras_del_cancer_en_Espana2018.pdf. Accessed January 8, 2019.
99. Yang TW, Park HO, Jang HN, et al. Side effects associated with the treatment of multidrug-resistant tuberculosis at a tuberculosis referral hospital in South Korea A retrospective study. 2017. doi:10.1097/MD.00000000000007482
100. Singh R, Sripada L, Singh R. Side effects of antibiotics during bacterial infection: Mitochondria, the main target in host cell. *Mitochondrion*. 2014;16:50-54. doi:10.1016/J.MITO.2013.10.005
101. Abad C, Fearday A, Safdar N. Adverse effects of isolation in hospitalised patients: a systematic review. *J Hosp Infect*. 2010;76(2):97-102. doi:10.1016/j.jhin.2010.04.027
102. IVD-CE Certified MALDI Biotyper - MALDI Biotyper Systems | Bruker. <https://www.bruker.com/products/mass-spectrometry-and-separations/ivd-ce-certified-maldi-biotyper.html>. Accessed November 5, 2018.
103. VITEK MS | bioMérieux Clinical Diagnostics. <https://www.biomerieux-diagnostics.com/vitekr-ms-0>. Accessed November 5, 2018.
104. Dhiman N, Hall L, Wohlfiel SL, Buckwalter SP, Wengenack NL. Performance and cost analysis of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for routine identification of yeast. *J Clin Microbiol*. 2011;49(4):1614-1616. doi:10.1128/JCM.02381-10
105. Cherkaoui A, Hibbs J, Emonet S, et al. Comparison of two matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry methods with conventional phenotypic identification for routine identification of bacteria to the species level. *J Clin Microbiol*. 2010;48(4):1169-1175. doi:10.1128/JCM.01881-09
106. World Health Organization. *Laboratory Biosafety Manual.*; 2004. <http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/Biosafety7.pdf>. Accessed November 6, 2018.
107. Choquet M, Guiheneuf R, Castelain S, et al. Comparison of MALDI-ToF MS with the Rapidec Carba NP test for the detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2018;37(1):149-155. doi:10.1007/s10096-017-3115-4
108. Hoyos-Mallecot Y, Riazco C, Miranda-Casas C, Rojo-Martín MD, Gutiérrez-Fernández J, Navarro-Marí JM. Rapid detection and identification of strains carrying carbapenemases directly from positive blood cultures using MALDI-TOF MS. *J Microbiol Methods*. 2014;105:98-101. doi:10.1016/j.mimet.2014.07.016
109. Hernández Egidio S, Luis Reboredo A de, García Señán A, et al. Summation of peaks and L34 ribosomal protein in the presence and absence of antibiotics enables susceptibility testing using MALDI-TOF mass spectrometry in 2 h from *Escherichia coli*-positive blood cultures. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. September 2018. doi:10.1016/j.eimc.2018.06.017
110. Whiting PF, Rutjes AWS, Westwood ME, et al. QUADAS-2: A Revised Tool for the Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies. *Ann Intern Med*. 2011;155(8):529. doi:10.7326/0003-4819-155-8-201110180-00009
111. Rhoads DD, Wang H, Karichu J, Richter SS. The presence of a single MALDI-TOF mass spectral peak predicts methicillin resistance in staphylococci. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2016;86(3):257-261. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2016.08.001

112. Schuster D, Josten M, Janssen K, et al. Detection of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci harboring the class A mec complex by MALDI-TOF mass spectrometry. *Int J Med Microbiol.* 2018;308(5):522-526. doi:10.1016/j.ijmm.2018.05.001
113. Charretier Y, Schrenzel J. Mass spectrometry methods for predicting antibiotic resistance. *Proteomics Clin Appl.* 2016;10(9-10):964-981. doi:10.1002/prca.201600041
114. ECDC/EMEA Joint Technical Report. *The Bacterial Challenge: Time to React - A Call to Narrow the Gap between Multidrug-Resistant Bacteria in the EU and the Development of New Antibacterial Agents.* Stockholm;2009. doi:10.2900/2518
115. Alonso Herreras, M; Aracil García, B; Badiola Saiz, I; Campos Marqués, J; Durán Ferrer, M; de Frutos Escobar, C; Herrera León L y otros. *Informe JIACRA España. Primer Análisis Integrado Del Consumo de Antibióticos y Su Relación Con La Aparición de Resistencia. Línea Estratégica I Del Plan Nacional Contra La Resistencia a Antibióticos.* http://www.resistenciaantibioticos.es/es/system/files/field/files/informe_jiacra-espana.pdf?file=1&type=node&id=410&force=0. Accessed November 6, 2018.
116. Laxminarayan R, Sridhar D, Blaser M, Wang M, Woolhouse M. Achieving global targets for antimicrobial resistance. *Science.* 2016;353(6302):874-875. doi:10.1126/science.aaf9286
117. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS). *Programas de Optimización de Uso de Antibióticos (PROA). Línea Estratégica II: Control. Plan Nacional Contra La Resistencia a Antibióticos.* Madrid; 2017. <https://www.aemps.gob.es>. Accessed October 24, 2018.
118. Coordinación Del Plan Nacional Frente A La Resistencia A Los Antibióticos. *Informe Anual 2016-2017 Del Plan Nacional de Resistencia a Antibióticos.*; 2017. http://www.resistenciaantibioticos.es/es/system/files/field/files/informe_anual_pran_2016-2017.pdf?file=1&type=node&id=441&force=0. Accessed November 6, 2018.
119. Patel TS, Kaakeh R, Nagel JL, Newton DW, Stevenson JG. Cost Analysis of Implementing Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization– Time of Flight Mass Spectrometry Plus Real-Time Antimicrobial Stewardship Intervention for Bloodstream Infections. Bourbeau P, ed. *J Clin Microbiol.* 2017;55(1):60-67. doi:10.1128/JCM.01452-16
120. Lockwood AM, Perez KK, Musick WL, et al. Integrating Rapid Diagnostics and Antimicrobial Stewardship in Two Community Hospitals Improved Process Measures and Antibiotic Adjustment Time. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2016;37(04):425-432. doi:10.1017/ice.2015.313
121. Shrestha P, Cooper BS, Coast J, et al. Enumerating the economic cost of antimicrobial resistance per antibiotic consumed to inform the evaluation of interventions affecting their use. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2018;7(1):98. doi:10.1186/s13756-018-0384-3
122. Riu M, Chiarello P, Terradas R, et al. Incremental cost of nosocomial bacteraemia according to the focus of infection and antibiotic sensitivity of the causative microorganism in a university hospital. *Medicine (Baltimore).* 2017;96(17):e6645. doi:10.1097/MD.0000000000006645
123. Vargas-Alzate CA, Higueta-Gutiérrez LF, López-López L, Cienfuegos-Gallet AV, Jiménez Quiceno JN. High excess costs of infections caused by carbape-

- nem-resistant Gram-negative bacilli in an endemic region. *Int J Antimicrob Agents*. 2018;51(4):601-607. doi:10.1016/j.ijantimicag.2017.12.012
124. Ibrahim NH, Maruan K, Mohd Khairy HA, Hong YH, Dali AF, Neoh CF. Economic Evaluations on Antimicrobial Stewardship Programme: A Systematic Review. *J Pharm Pharm Sci*. 2017;20(1):397. doi:10.18433/J3NW7G
 125. Canal Aranda M, Gómez Martínez J, Salvado Costa M. Estudio de coste-efectividad de la aplicación de la técnica MALDI-TOF MS en la identificación de micobacterias atípicas. *Gest y Eval Cost Sanit*. 2014;15(4):417-431. http://www.fundacionsigno.com/archivos/publicaciones/06_Coste_efectividad_MALDI_TOF.pdf. Accessed October 24, 2018.
 126. Gómez G. de la Pedrosa E. Estudio de coste-efectividad de la espectrometría de masas (MALDI-TOF) para la identificación de *Candida* spp. al nivel de especie y la adecuación del tratamiento en pacientes con candidemia. *Gest y Eval Cost Sanit*. 2014;15(4):457-476. http://www.fundacionsigno.com/archivos/publicaciones/08_Espectrometria_Candida_spp.pdf. Accessed October 24, 2018.
 127. Pliakos EE, Andreatos N, Shehadeh F, Ziakas PD, Mylonakis E. The Cost-Effectiveness of Rapid Diagnostic Testing for the Diagnosis of Bloodstream Infections with or without Antimicrobial Stewardship. *Clin Microbiol Rev*. 2018;31(3). doi:10.1128/CMR.00095-17
 128. Perez KK, Olsen RJ, Musick WL, et al. Integrating Rapid Pathogen Identification and Antimicrobial Stewardship Significantly Decreases Hospital Costs. *Arch Pathol Lab Med*. 2013;137(9):1247-1254. doi:10.5858/arpa.2012-0651-OA
 129. Cabrolier N, Sauget M, Bertrand X, Hocquet D. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry identifies *Pseudomonas aeruginosa* high-risk clones. *J Clin Microbiol*. 2015;53(4):1395-1398. doi:10.1128/JCM.00210-15
 130. Hrabak J, Chudackova E, Walkova R. Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight (MALDI-TOF) Mass Spectrometry for Detection of Antibiotic Resistance Mechanisms: from Research to Routine Diagnosis. *Clin Microbiol Rev*. 2013;26(1):103-114. doi:10.1128/cmr.00058-12
 131. Doern CD, Butler-Wu SM. Emerging and Future Applications of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight (MALDI-TOF) Mass Spectrometry in the Clinical Microbiology Laboratory: A Report of the Association for Molecular Pathology. *J Mol Diagnostics*. 2016;18(6):789-802. doi:10.1016/j.jmol-dx.2016.07.007

13. Anexos

Anexo 1. Evaluación de la calidad de la evidencia

Con el fin de evaluar la calidad de los estudios identificados que presentan datos de sensibilidad y especificidad sobre la detección de mecanismos de resistencia mediante espectrometría de masas MALDI-TOF se siguió la metodología de la herramienta QUADAS-2¹¹⁰. Para ello se planteó la siguiente pregunta de revisión: ¿Es la tecnología MALDI-TOF sensible y específica para la detección de resistencias a antibióticos?

Se evaluó el **riesgo de sesgo** de cada estudio para los dominios que se listan a continuación considerando, en cada caso, distintas preguntas orientativas:

1. Modo de selección de las muestras.
 - i. ¿Las muestras fueron seleccionadas de forma aleatoria o consecutiva?
 - ii. ¿Se evitaron exclusiones inapropiadas?
2. Interpretación de los resultados de la prueba índice (MALDI-TOF).
 - i. ¿Fueron los resultados de la prueba índice interpretados sin conocimiento de los resultados de la prueba de referencia?
 - ii. Si se utilizó un umbral para definir los resultados positivos y negativos de la prueba índice, ¿fue especificado previamente?
3. Características de la prueba de referencia.
 - i. ¿Es probable que la prueba de referencia valore correctamente la condición diana (presencia de resistencias)?
 - ii. ¿Fueron los resultados de la prueba de referencia interpretados sin conocimiento de los resultados de la prueba índice?
4. Flujo y tiempos en relación al procesamiento de las muestras.
 - i. ¿Se aplicó una prueba de referencia a todas las muestras?
 - ii. ¿Fue aplicada en todas las muestras la misma prueba de referencia?
 - iii. ¿Fueron todas las muestras incluidas en el análisis?

Para evaluar la **aplicabilidad** de cada estudio y si existe preocupación acerca de que el objetivo del estudio no coincida con la pregunta de revisión se tuvo en cuenta:

1. Si existe preocupación acerca de que la muestra del estudio sea adecuada para responder la pregunta de revisión.
2. Si existe preocupación de que la ejecución de la prueba índice o su interpretación no coincidan con la pregunta de revisión.
3. Si hay preocupación de que la condición diana (presencia de resistencia a antibióticos), clasificada como tal a través de la prueba de referencia, difiera de la población a la cual estaba dirigida la pregunta de revisión.

Cada uno de los dominios fue valorado de alto riesgo de sesgo/preocupación de aplicabilidad si la respuesta a una o más preguntas fue negativa, de bajo riesgo si la respuesta a todas las preguntas fue afirmativa, o de riesgo incierto si no se disponía de información suficiente para emitir un juicio. Finalmente, la calidad del estudio se consideró alta cuando el estudio presentó menos de dos dominios con juicio negativo y/o incierto, intermedia cuando presentó dos juicios negativos y/o inciertos, y baja cuando presentó tres o más juicios negativos y/o inciertos. A continuación, se presentan los resultados de la evaluación de la calidad de los distintos estudios (Tabla A1 y Fig. A1).

Tabla A1. Resultados de la evaluación de los estudios detectados que valoran la sensibilidad y la especificidad de la tecnología MALDI-TOF para la detección de mecanismos de resistencia antimicrobianos.

Estudio	RIESGO DE SESGO				PREOCUPACIÓN SOBRE APLICABILIDAD			CALIDAD
	Selección de muestras	Prueba índice	Prueba de referencia	Flujo y tiempos	Selección de muestras	Prueba índice	Prueba de referencia	
<i>Pardo 2016</i> ⁶⁰	Alto	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Alta
<i>Oviaño 2017</i> ⁶¹	Alto	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Alta
<i>Idelevich 2018</i> ⁶⁹	Bajo	Alto	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Alta
<i>Idelevich 2018</i> ⁶⁸	Bajo	Alto	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Alta
<i>Lange 2014</i> ⁵⁹	Alto	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Alta
<i>De Carolis 2017</i> ⁷⁶	Alto	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Alta
<i>Maxson 2017</i> ⁶⁷	Alto	Alto	Bajo	Alto	Bajo	Bajo	Bajo	Baja
<i>Sauget 2018</i> ⁷⁰	Dudoso	Alto	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Intermedia
<i>Josten 2014</i> ³⁵	Alto	Bajo	Bajo	Alto	Bajo	Bajo	Bajo	Intermedia
<i>Rhoads 2016</i> ¹¹¹	Alto	Alto	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Intermedia
<i>Schuster 2018</i> ¹¹²	Alto	Dudoso	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Intermedia
<i>Youn 2016</i> ³⁸	Alto	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Alta
<i>Su 2017</i> ⁶	Alto	Alto	Bajo	Alto	Bajo	Bajo	Bajo	Baja

→

Estudio	RIESGO DE SESGO				PREOCUPACIÓN SOBRE APLICABILIDAD			CALIDAD
	Selección de muestras	Prueba índice	Prueba de referencia	Flujo y tiempos	Selección de muestras	Prueba índice	Prueba de referencia	
<i>Oviaño 2016</i> ⁴²	Alto	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Alta
<i>Choquet 2018</i> ¹⁰⁷	Dudoso	Alto	Bajo	Alto	Bajo	Bajo	Bajo	Baja
<i>Hoyos-Mallecot 2014</i> ¹⁰⁸	Alto	Alto	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Intermedia
<i>Jung 2014</i> ⁴⁶	Alto	Bajo	Alto	Alto	Bajo	Bajo	Bajo	Baja
<i>Kempf 2012</i> ⁴⁷	Alto	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Alta
<i>Knox 2017</i> ⁴⁸	Alto	Alto	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Intermedia
<i>Li 2018</i> ⁴⁹	Alto	Alto	Bajo	Alto	Bajo	Bajo	Bajo	Baja
<i>Monteferrante 2016</i> ⁷⁷	Alto	Alto	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Intermedia
<i>Oviaño 2017</i> ⁵¹	Alto	Alto	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Intermedia
<i>Oviaño 2017</i> ⁵	Alto	Dudoso	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Intermedia
<i>Yu 2018</i> ⁵⁰	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Alta
<i>Dortet 2018</i> ⁷²	Alto	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Alta
<i>Rapp 2018</i> ⁷³	Alto	Dudoso	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Intermedia
<i>Hernandez Egido 2018</i> ¹⁰⁹	Alto	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Alta

Figura A1. Resultados de la evaluación de la calidad de los estudios que han analizado la sensibilidad y especificidad de MALDI-TOF como prueba diagnóstica para detectar mecanismos de resistencia a antibióticos en microorganismos causantes de infecciones.

