



# 16<sup>th</sup> Infocus

NOVIEMBRE 15 - 17 DE 2018

Santiago de Cali, Colombia

HOTEL INTERCONTINENTAL

# Identificación de aislamientos clínicos del complejo *Sporothrix schenckii* por espectrometría de masas MALDI-TOF

**Gómez-Velásquez Juan C<sup>1</sup>, Flórez-Muñoz Sindy V<sup>2</sup>, Loaiza-Díaz- Natalia<sup>1</sup>, Lima Nelson<sup>3</sup>, Mesa-Arango Ana Cecilia<sup>2</sup>**

1. Laboratorio Clínico Prolab. S.A.S. Calle 19 A #44-25, Piso 2, Medellín Colombia.
2. Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Grupo de investigación Dermatológica (GRID), Cra 51D-# 62-29 Oficina 303, Edificio Manuel Uribe Ángel, Medellín Colombia.
3. Micoteca da Universidade do Minho, CEB-Centro de Engenharia Biológica, Campus de Gualtar, Braga, Portugal

Email: [jugovela@yahoo.com](mailto:jugovela@yahoo.com)

## Introducción

*Sporothrix schenckii* es un hongo dimórfico, que por mucho tiempo fue considerado la única especie responsable de la esporotricosis. Sin embargo, con el advenimiento de las técnicas de biología molecular, aplicadas a la investigación taxonómica de hongos, se demostró que *S. schenckii* es un complejo de especies crípticas conformado por *S. brasiliensis*, *S. schenckii* sensu stricto, *S. globosa*, *S. mexicana* y *S. luriei*. Estas especies difieren en sensibilidad antifúngica, distribución geográfica y virulencia. Tradicionalmente la identificación de *Sporothrix* spp., se ha llevado a cabo con métodos fenotípicos clásicos, sin embargo, estos no son suficientes para la clasificación correcta de las diferentes especies, por la similitud morfológica entre ellas. La espectrometría de masas (EM) MALDI-TOF es una técnica ampliamente utilizada para la identificación rápida de diferentes microorganismos. El objetivo del presente trabajo fue la creación y validación de una base de espectros de diferentes especies del complejo *S. schenckii* a partir de la forma micelial del hongo para identificar aislamientos clínicos por EM- MALDI-TOF.

## Materiales y métodos

Se fabricaron espectros de referencia con el sistema Microflex (Bruker, Daltonics, Alemania) usando micelio de 48 horas de crecimiento de las cepas *S. schenckii* sensu stricto UDEA 9805079, *S. globosa* MUM 17.06 y *S. mexicana* MUM 17.07. Posteriormente se procedió a confirmar la identificación de 27 aislamientos clínicos de *S. schenckii* y 11 de *S. globosa*, aislados entre 1990 y 2010 en el Laboratorio de Micología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Antioquia, que se habían identificado previamente por secuenciación parcial del gen de la calmodulina. Una puntuación entre 1,700-1,999

correspondió a identificación de género, > 2,00 a especie, y < 1,700 a no identificación. La concordancia entre la identificación por EM MALDI-TOF y por secuenciación, se analizó calculando el índice *Kappa* ( $\kappa$ ) de Cohen.

### **Resultados**

Se crearon las bases de espectro de las especies *S. mexicana*, *S. schenckii* sensu stricto y *S. globosa* de acuerdo a los criterios indicados por el fabricante (Bruker, Daltonics, Alemania). De los 27 aislamientos de *S. schenckii* sensu stricto, 26 (68.4%) fueron identificados correctamente por EM-MALDI-TOF así como los 11 de *S. globosa*. Un aislamiento que se había identificado por secuenciación como *S. schenckii* sensu stricto fue identificado como *S. globosa* por EM-MALDI-TOF. El análisis de concordancia entre la identificación por las dos técnicas dio como resultado un valor  $\kappa$  igual a 0,938.

### **Conclusiones**

Con la EM MALDI-TOF se identificó correctamente el 97.3% de los aislamientos partiendo de la forma micelial, tras 48 horas de crecimiento; tiempo considerablemente inferior al requerido para la identificación de *Sporothrix* spp., por los métodos fenotípicos clásicos o por secuenciación de una o varias dianas. Teniendo en cuenta la alta concordancia entre las dos técnicas ( $\kappa= 0.938$ ) y que EM MALDI-TOF es costo-efectiva, es posible proponerla para la identificación de especies de *Sporothrix* en el laboratorio de diagnóstico micológico de rutina.

### **Agradecimientos**

Proyecto 2604 CODI-UdeA y Laboratorio clínico Prolab S.A.S.