

MALDI-TOF-MS and machine learning as tools for translational research in Argentina

Resumen

La espectrometría de masas MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization – Time of Flight) ha emergido como una técnica sobresaliente en el ámbito de la microbiología clínica; con una metodología simple y capacidad para ofrecer resultados precisos en un lapso breve. Esta tecnología mostró un éxito notorio, estableciéndose como una herramienta fundamental en la caracterización de microorganismos y en la investigación traslacional. La combinación de sus características con el potencial de análisis por aprendizaje automatizado ha demostrado ser de gran valor, acelerado el diagnóstico de la resistencia a antimicrobianos en bacterias. A su vez, ha abierto nuevas perspectivas en campos críticos de la medicina, como sepsis y la oncología. En Argentina, varios grupos contribuyen activamente a su expansión y aplicación en la lucha contra enfermedades infecciosas, incluida la pandemia de COVID-19. Estos esfuerzos prometen continuar impulsando la investigación y el diagnóstico clínico tanto en el país como en todo el mundo.

Palabras claves: MALDI-TOF-MS, Aprendizaje automatizado, Investigación traslacional,

Abstract

Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization – Time of Flight – Mass Spectrometry (MALDI-TOF-MS) has emerged as an outstanding technique in the field of clinical microbiology, with a simple methodology and delivery of precise results in an exceptionally short timeframe. This technology has garnered notable success in recent years, establishing as a fundamental tool both in the characterization of microorganisms and translational research. The combination of the inherent features of this technique with the potential of machine learning analysis has proved to be of great value in clinical microbiology, particularly in the antibiotic resistance field. Its application has accelerated bacterial diagnosis and opened new perspectives in critical areas of medicine, such as sepsis and oncology. In Argentina, several research groups actively contributing to its expansion, applying MALDI-TOF-MS in the fight against infectious diseases, including the COVID-19 pandemic. These efforts promise to continue driving research and clinical diagnosis in the country and worldwide.

Keywords: MALDI-TOF-MS, Machine learning, Translational research

1 Generalidades

La espectrometría de masas MALDI-TOF-MS es una tecnología de alto rendimiento ampliamente utilizada en proteómica. Permite medir la abundancia relativa de proteínas, metabolitos, péptidos y aminoácidos en muestras biológicas, así como estudiar cambios en la expresión de estos entre subgrupos de muestras y a lo largo del tiempo. También brinda una comprensión de los mecanismos intracelulares y la identificación de biomarcadores relevantes para distinguir tejidos y predecir el estado de salud [1, 2, 3].

En la microbiología clínica, MALDI-TOF-MS se utiliza para identificar géneros y especies bacterianas sin necesidad de aislar colonias, lo que reduce significativamente el tiempo de identificación a minutos [4]. La técnica compara perfiles de proteínas, principalmente ribosomales por ser las más abundantes en bacterias, de 2 a 20 kDa (peptidoma) en aislamientos bacterianos con bases de datos generadas con bacterias de referencia. Además, esta técnica puede detectar otras proteínas citoplasmáticas, lo que ha llevado a explorar su aplicación en la resistencia a antibióticos [5]. El análisis de esta información adicional a través de machine learning y/o análisis multivariados permite ampliar la utilidad de la técnica.

Machine learning y MALDI-TOF-MS

Un enfoque estratégico consiste en utilizar algoritmos de machine learning para identificar señales espectrales características y clasificar grupos. Para esto, se entrenan y prueban modelos con datos asignados aleatoriamente a conjuntos de entrenamiento o prueba. R es uno de los softwares para realizar análisis de machine learning más reconocidos y preferidos debido a su flexibilidad y reproducibilidad analítica, en contraste con los softwares comerciales que a menudo operan en modo "caja negra" [6]. En 2018, Fondrie et al. publicaron el primer uso exitoso de R en el análisis de experimentos de lipidómica por MALDI-TOF-MS y la aplicación de machine learning para clasificar bacterias en relación con la resistencia a la colistina [7]. Esta innovación llevó a la adaptación de los equipos que comercializa la empresa Bruker para poder realizar análisis lipidómicos junto con los análisis peptidómicos habituales en laboratorios de microbiología.

Estado actual en Argentina

En Argentina, varios grupos de instituciones nacionales participan en investigaciones bajo la Red Nacional de Espectrometría de Masas (RENAEM) [8], con origen en el Departamento de Bacteriología-INEI-ANLIS-Malbrán y el Laboratorio Bacteriología Clínica del Hospital de Clínicas "José de San Martín".

Estos grupos colaboran, entre otras cosas, en la expansión de la base de datos del sitio del CDC MicrobeNet [9]. El grupo del INEI-ANLIS-Malbrán desempeñó un papel importante durante la pandemia de COVID-19 al investigar el desempeño de MALDI-TOF-MS para diagnosticar la enfermedad a partir de hisopados nasofaríngeos [10]. Además, trabajan activamente en ampliar la aplicación de la metodología en otras áreas de la microbiología clínica [11]. En el IBAViM-Ffyb-UBA están desarrollando aplicaciones valiosas en el ámbito clínico, como la detección de carbapenemasas en botellas de hemocultivo [12, 13].

Fuera del ámbito de la microbiología, se han logrado avances en la investigación básica que buscan ampliar el uso de la metodología. Por ejemplo, el IMEX-ANM-CONICET y colaboradores demostraron la capacidad de MALDI-TOF-MS y machine learning para discriminar ratones en distintas fases de un modelo de sepsis experimental [14]. Además, el IDEHU-UBA-CONICET y colaboradores demostraron la posibilidad de distinguir células de Leucemia Mieloide Crónica resistentes a Imatinib de células sensibles, así como células de Glioblastoma sensibles y resistentes a Temozolamida [15]. Actualmente, en el contexto de una colaboración entre los Servicios de Cardiología, el área de Bacteriología (Laboratorio) y la Unidad de Genómica del CEMET del Hospital El Cruce Alta Complejidad en Red Dr. Néstor Carlos Kirchner, se está probando la utilidad de la metodología para clasificar plasma de pacientes con enfermedad aterosclerótica para buscar marcadores pronósticos y contar con una herramienta diagnóstica temprana de enfermedad aterosclerótica.

2 Conclusión

La espectrometría de masas MALDI-TOF-MS ha demostrado ser una herramienta poderosa en el campo de la microbiología clínica, permitiendo la identificación rápida y precisa de bacterias y expandiendo su aplicación al diagnóstico de la resistencia a antibióticos. La combinación de MALDI-TOF-MS con análisis por machine learning ha abierto nuevas oportunidades en el diagnóstico y la investigación traslacional, especialmente en áreas críticas de la salud humana, como la sepsis y la oncología. En Argentina, diversos grupos de investigación están liderando avances en esta tecnología, colaborando activamente en la expansión de las bases de datos y aplicando MALDI-TOF-MS en el diagnóstico de enfermedades infecciosas. Estos esfuerzos prometen continuar contribuyendo al avance de la investigación y el diagnóstico clínico en el país y en el mundo.

3 Bibliografía

1. Fiedler, GM., Leightle, AB., Kase, J., Baumann, S., Ceglarek, U., Felix, K., Conrad, T., Witzigmann, H., Weimann, A., Schütte, C., Hauss, J., Büchler, M., Thiery, J. (2009). Serum Peptide Profiling Revealed Platelet Factor 4 as a Potential Discriminating Peptide Associated with Pancreatic Cancer. *Clin Cancer Res*;15(11).
2. Gibb, S., Strimmer, K. (2015). Differential protein expression and peak selection in mass spectrometry data by binary discriminant analysis. *Bioinformatics*, 31(19): 3156–3162.
3. Dumas, A., Alingrin, J., Ouedraogo, R., Villani, P., Leone, M., Mege, JL. (2018). MALDI-TOF MS monitoring of PBMC activation status in sepsis. *BMC Infectious Diseases* 18:355.
4. Clark AE., Kaleta EJ., Arora A., Wolk DM. (2013). «Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry: a Fundamental Shift in the Routine Practice of Clinical Microbiology». *Clinical Microbiology Reviews*. 26 (3): 547-603.
5. Vrioni, G., Tsiamis, C., Oikonomidis, G., Theodoridou, K., Kapsimali, V., Tsakris, A. (2018).
6. MALDI-TOF mass spectrometry technology for detecting biomarker of antimicrobial resistance: current achievements and future perspectives. *Ann Transl Med*. 6(12): 240.
7. R Core Team (2023). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL.
8. Fondrie, WE., Liang, T., Oyler, BL., Leung, LM., Ernst, RK., Strickland, DK., Goodlett, DR. (2018). Pathogen Identification Direct From Polymicrobial Specimens Using Membrane Glycolipids. *Scientific Reports*. 8:15857 | DOI:10.1038/s41598-018-33681-8.
9. Rocca, MF., Almuzara, M., Barberis, C., Vay, C., Viñes, P., Prieto, M. [Presentation of the National Network for Microbiological Identification by Mass Spectrometry website. Guide for the interpretation of MALDI-TOF MS results]. *Rev Argent Microbiol*. 2020;52:83–4.
10. <https://microbenet.cdc.gov/>
11. Rocca, MF., Zintgraff, JC., Dattero, ME., Santos, LS, Ledesma, M., Vay, C., Prieto, M., Benedetti, E., Avaro, M., Russo, M., Nachtigall, MF., Baumeister, E. A Combined approach of MALDI-TOF Mass Spectrometry and multivariate analysis as a potential tool for the detection of SARS-CoV-2 virus in nasopharyngeal swabs. *Journal of Virological Methods* 2020; 286(3).
12. Manfredi, E., Florencia Rocca, MF., Zintgraff, J., Irazu, L., Miliwebsky, E., Carbonari, C., Deza, N., Prieto, M., Chinen, I. (2023). Rapid and accurate detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) serotype O157:H7 by mass spectrometry directly from the isolate, using 10 potential biomarker peaks and machine learning predictive models. *Journal of Medical Microbiology*, 72:5.
13. Figueroa-Espinosa R, Costa A, Cejas D, Barrios R, Vay C, Radice M, Gutkind G, Di Conza J. MALDI-TOF MS based procedure to detect KPC-2 directly from positive blood culture bottles and colonies. *J Microbiol Methods*. 2019;159:120–7.
14. Costa, A.; Figueroa-Espinosa, R.; Martínez, J.A.; Fernández-Canigia, L.; Maldonado, M.I.; Bergese, S.A.; Schneider, A.E.; Vay, C.; Rodríguez, C.H.; Nastro, M.; et al. MALDI-TOF MS-Based KPC Direct Detection from Patients' Positive Blood Culture Bottles, Short-Term Cultures, and Colonies at the Hospital. *Pathogens* 2023, 12, 865. <https://doi.org/10.3390/pathogens12070865>
15. Ledesma, M., Toderó, M.F., Maceira, L. et al. Peptide profiling for the immunological stratification in sepsis: a proof of concept study. *Sci Rep* 12, 11469 (2022).
16. Ledesma, M., Poodts, D., Amoia, S. et al. Discrimination of the chemotherapy resistance status of human leukemia and glioblastoma cell lines by MALDI-TOF-MS profiling. *Sci Rep* 13, 5596 (2023).