

MALDI-TOF MS na micologia clínica: fundamentos, aplicações e impacto no diagnóstico fúngico

MALDI-TOF MS in clinical mycology: fundamentals, applications, and impact on fungal diagnosis

Clarice Ribeiro Roque de Assumpção¹ , Isabelle Dias de Oliveira^{1,2} , Kelly Yui Tsugao^{1,2} , Leonardo José Tadeu de Araújo^{1,2*} , Juliana Possato Fernandes Takahashi^{1,2,3} 

¹ Núcleo de Patologia Quantitativa, Centro de Patologia, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil. 

² Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Instituto de Assistência Médica ao Servidor Público Estadual de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil. 

³ Centro Universitário Sumaré, São Paulo, SP, Brasil. 

*Autor de correspondência/Corresponding author: leonardo.araujo@ial.sp.gov.br

Recebido/Received: 16.10.2025

Aceito/Accepted: 25.11.2025

Publicação/Publication: 19.12.2025

RESUMO

A Espectrometria de Massas por Ionização e Dessorção a Laser Assistida (MALDI-TOF MS) tem revolucionado a micologia clínica ao reduzir o tempo de identificação de fungos, aumentar a precisão diagnóstica e permitir terapias mais direcionadas. Baseado na análise de proteínas ribossomais, o método já é usado em diversas plataformas comerciais. Apesar dos avanços, ainda enfrenta limitações na identificação de espécies crípticas, fungos multirresistentes e em infecções por *Candida auris* e *Aspergillus* spp. Seu uso eficaz depende de profissionais treinados, protocolos padronizados, manutenção rigorosa e bancos de dados atualizados.

Palavras-chave. Espectrometria de Massas por Ionização e Dessorção a Laser Assistida por Matriz, Micologia, Técnicas Microbiológicas.

ABSTRACT

Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) has revolutionized clinical mycology by significantly reducing the time required for fungal identification, increasing diagnostic accuracy, and enabling more targeted antifungal therapies. Based on ribosomal protein analysis, the method is used across various commercial platforms. Despite its advancements, it still faces limitations in identifying cryptic species, multidrug-resistant fungi, and hospital-acquired infections caused by *Candida auris* and *Aspergillus* spp. Its effective use requires trained professionals, standardized protocols, regularly updated databases, and proper equipment maintenance.

Keywords. Spectrometry Mass Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization, Mycology, Microbiological Techniques.

O desenvolvimento de tecnologias para diagnóstico laboratorial tem sido fundamental na identificação microbiológica, reduzindo o tempo de identificação após o crescimento da colônia, acelerando a conduta terapêutica e aumentando a precisão diagnóstica. Entre as tecnologias, destaca-se a Espectrometria de Massas por Ionização e Dessorção a Laser Assistida por Matriz (MALDI-TOF MS), que revolucionou a identificação microbiana. Inicialmente, o método foi padronizado para bactérias, mas ao longo do tempo outros microrganismos foram inseridos em seu banco de dados¹.

Na rotina laboratorial e em vigilâncias epidemiológicas, o MALDI-TOF MS proporciona alta confiabilidade e precisão, derivadas da padronização de protocolos e robustez dos bancos de dados². Entretanto, na micologia, a metodologia enfrenta dificuldades devido a morfologias semelhantes e raras. Assim, torna-se crucial desenvolver um senso crítico na análise dos resultados e dominar o funcionamento do aparelho no contexto da clínica e da pesquisa científica³.

Nas últimas décadas, nota-se a utilização progressiva da biologia molecular na identificação de microrganismos. O *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight* (MALDI-TOF MS) tem como fundamento a ionização de proteínas ribossomais. Recebendo destaque por sua alta precisão e rapidez, esse método tem como parâmetro o espectro de massa, armazenando diferentes espectros em seu banco de dados, que posteriormente são usados na comparação de um espectro desconhecido com a referência do banco de dados¹.

Apesar de todas as vantagens, esse método depende de cuidados minuciosos e rígidos, incluindo, além do próprio equipamento especializado, calibrações periódicas, padronização dos protocolos, atualizações regulares do banco de dados e treinamento de profissionais, já que a execução e análise crítica são cruciais¹.

Existem diferentes plataformas comerciais de MALDI-TOF MS, como o MALDI-TOF Biotyper (Bruker Daltonics, Alemanha) e o VITEK® MS (bioMérieux, França)^{1,4}. Estas plataformas apresentam variações em seus pré-processamentos de amostras. No MALDI Biotyper, é comparado o espectro desconhecido da amostra como o espectro de referência utilizando o “Start identification”, o qual resulta no *log (scores)*². O *score* se refere à confiabilidade da análise, *scores* com valores maiores que 2,3 indicam identificação confiável em nível de espécie; valores entre 2,0 e 2,299 correspondem à identificação confiável em nível de gênero, mas probabilidade em espécie; valores entre 1,7 e 1,999 indicam provável identificação em nível de gênero; e valores menores que 1,7 indicam identificação não confiável. Além do *score*, o MALDI-TOF MS constrói uma lista de espectros de picos de massa, formado pela detecção de íons, gerados pela quebra de proteínas ribossomais¹.

Os espectros com *score* alto correspondem a dados consistentes no banco de dados, enquanto pontuações intermediárias ou baixas exigem verificação por métodos complementares. O VITEK® MS apresenta resultados em probabilidades percentuais, sendo valores próximos de 99 a 100% indicativos de alta confiança; entre 60 e 90% sugerindo identificação provável; e valores menores que 60%, considerados inconclusivos, exigindo confirmação adicional⁴.

Embora o MALDI-TOF MS apresente exatidão diagnóstica, sua eficiência não depende unicamente da tecnologia em si, mas também da interpretação criteriosa dos espectros, da execução pré-processamento e do auxílio com métodos complementares, como no caso de confirmação de espécies crípticas^{1,3}.

O MALDI-TOF, embora seja um equipamento que precise de interpretação crítica dos resultados, vem sendo uma ferramenta de importância para a identificação fúngica^{1,3}, já que o método ajuda na administração mais específica de antifúngicos, e no acompanhamento de variantes resistentes e espécies raras⁵.

Em leveduras, o MALDI-TOF MS possibilitou a identificação rápida e confiável de espécies como *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* e também *C. auris*, conhecida como “superfungo”, por apresentar multirresistência intrínseca⁵.

Na América, África, Ásia e Europa, o diagnóstico de alguns pacientes pelo MALDI-TOF teve como resultado a implementação de melhores cuidados aos pacientes e protocolos corretos de higiene hospitalar³.

Em 2023, foi registrado em Campinas/SP o primeiro caso de *C. auris* em São Paulo, em um recém-nascido no Hospital da Mulher. Diferentemente do padrão internacional, a variante isolada não apresentou resistência intrínseca aos antifúngicos⁶. Neste contexto, o MALDI-TOF MS representou papel essencial para a investigação laboratorial e na pesquisa sobre diferenças fenotípicas e genotípicas da espécie, mostrando ser uma ferramenta estratégica para o monitoramento de variantes. No entanto, existe uma falta do espectro de referência para *C. auris*, de acordo com a Bruker, em seu banco de dados, atualmente totalizando nove espectros de referência do patógeno⁵.

Em contrapartida, para os fungos filamentosos, particularmente do gênero *Aspergillus* spp., o MALDI-TOF MS revelou-se confiável na análise de *A. fumigatus*, mas mostrou limites em identificações de espécies críticas como *A. lentulus*, *A. thermomutatus*, *A. novofumigatus* e *A. calidoustus*, evidenciando dificuldades na semelhanças morfológicas dos espectros proteicos^{4,3}. Consequentemente, essas limitações têm grande relevância clínica, uma vez que, além de haver poucas opções de antifúngicos disponíveis, esses medicamentos apresentam ação intensa e potencial para efeitos adversos, especialmente renais. A maior preocupação é que algumas variantes apresentam resistências endógenas aos azóis³. O método tem desempenhado importância no auxílio em testes de suscetibilidade antifúngica (AFST), possibilitando ajustes terapêuticos mais direcionados⁵.

Desta forma, o MALDI-TOF MS representa um avanço significativo para o diagnóstico microbiológico, especialmente ao proporcionar agilidade, precisão e maior segurança na identificação de microrganismos clínicos, incluindo fungos de importância médica¹. Embora seja uma tecnologia robusta, seu desempenho depende diretamente da qualidade do pré-processamento, da capacitação dos profissionais e da atualização contínua dos bancos de dados².

Os desafios encontrados na identificação de espécies críticas, raras ou multirresistentes evidenciam a necessidade de interpretação criteriosa dos espectros e do uso combinado com outros métodos laboratoriais⁵. Além da identificação, a aplicação do MALDI-TOF MS no monitoramento de resistência antifúngica e no suporte à escolha terapêutica se destaca como componente essencial na conduta clínica, especialmente diante da gravidade das infecções fúngicas e da toxicidade dos antifúngicos disponíveis^{3,5}.

Assim, reforça-se a importância de investimentos contínuos em pesquisa, desenvolvimento tecnológico e expansão dos bancos de referência, a fim de aprimorar o desempenho do método e reduzir limitações ainda presentes. O MALDI-TOF MS consolida-se, portanto, como uma ferramenta estratégica na micologia clínica e no diagnóstico laboratorial moderno, contribuindo para condutas mais rápidas, assertivas e alinhadas às necessidades atuais da prática em saúde.



REFERÊNCIAS

1. Cassagne C, Normand AC, L'Ollivier C, Ranque S, Piarroux R. Performance of MALDI-TOF MS platforms for fungal identification. *Mycoses*. 2016;59(11):678-90.
<https://doi.org/10.1111/myc.12506>
2. Cassagne C, Ranque S, Normand AC, Fourquet P, Thiebault S, Planard C et al. Mould routine identification in the clinical laboratory by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *PLoS One*. 2011;6(12):e28425.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028425>
3. Imbert S, Normand AC, Gabriel F, Cassaing S, Bonnal C, Costa D et al. Multi-centric evaluation of the online MSI platform for the identification of cryptic and rare species of *Aspergillus* by MALDI-TOF. *Med Mycol*. 2019;57(8):962-8.
<https://doi.org/10.1093/mmy/myz004>
4. Américo FM, Siqueira LPM, Del Negro GMB, Gimenes VMF, Trindade MRS, Motta AL et al. Evaluating VITEK MS for the identification of clinically relevant *Aspergillus* species. *Med Mycol*. 2020;58(3):322-7.
<https://doi.org/10.1093/mmy/myz066>
5. Delavy M, Santos AR, Heiman CM, Coste AT. Investigating antifungal susceptibility in *Candida* species with MALDI-TOF MS-based assays. *Front Cell Infect Microbiol*. 2019;9:19.
<https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00019>
6. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BR). Alerta de risco GVIMS/GGTES/Anvisa nº 01/2023: Confirmação de casos de *Candida auris* em hospital de São Paulo. Brasília (DF): Anvisa; 2023 [acesso 2025 Ago 25]. Disponível em:
<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/comunicados-de-risco-1/alerta-candida-auris-em-sp-09-06-2023.pdf>