

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOLOGÍA CONTROL M-2/18

En el Análisis de Resultados del presente control se comentan los resultados obtenidos en el estudio micológico de la muestra enviada para control externo. Se trató de un tubo de Sabouraud sembrado con el hongo a estudio, que había sido preparado por el Programa de Control de Calidad Externo SEIMC (Programa CCS) a partir de una cepa de reserva, la cual había sido debidamente almacenada y, cuyo estudio, fue realizado por los laboratorios externos expertos que actuaron de referencia para el Programa CCS. Además, se confirmó la homogeneidad y estabilidad de la muestra a través de ensayos realizados tras la siembra de tubos de Sabouraud y tras su envío, asegurando así la validez de la misma.

El valor asignado se determinó a partir del consenso de resultados (coincidencia de resultados) aportados por dos laboratorios expertos, que emplearon métodos con sensibilidad y especificidad adecuadas para cada determinación. Además, la identificación fue refrendada mediante estudio de secuenciación. Estos laboratorios expertos colaboran con el Programa CCS mediante la firma de acuerdos.

El presente Análisis de Resultados ha sido elaborado por especialistas en Microbiología y Parasitología.

La confidencialidad de todos los resultados está asegurada a través de la firma de Compromisos de Confidencialidad por parte de todo el personal del Programa CCS y de sus colaboradores.

INTRODUCCIÓN

En el presente control se envió a los participantes un tubo con medio Sabouraud que contenía un único hongo filamentosos. La historia clínica que acompañaba a la cepa correspondía a la de un paciente de 65 años con antecedentes de hábito tabáquico (exfumador de 20 cigarrillos / día) y diagnosticado de EPOC grave, que acudía al Servicio de Urgencias por empeoramiento en las últimas 48 horas de su estado basal presentando un aumento progresivo de su disnea habitual, tos con expectoración blanquecina y dolor torácico moderado al toser. El paciente refería haber precisado ciclos cortos de corticoides orales y antibióticoterapia en varias ocasiones a raíz de varios episodios de reagudización que había presentado en los dos últimos meses. En su historia clínica, como antecedentes, relataba haber padecido una tuberculosis pulmonar que fue tratada y curada hacía unos 20 años. En la exploración, con la auscultación pulmonar se objetivaron crepitantes basales bilaterales y sibilancias espiratorias generalizadas en ambos campos pulmonares. Además, presentaba una ligera leucocitosis ($15,9 \times 10^9/L$) con neutrofilia (75,6%), junto a una PCR de 5,3 mg/dL, acidosis e insuficiencia respiratoria leve. En la radiografía de tórax se observó un patrón destructivo en lóbulo superior derecho como secuela post-tuberculosis e infiltrados basales bilaterales. Ante estos hallazgos, se decidió remitir una muestra de esputo al Servicio de Microbiología para estudio bacteriológico, micológico y de micobacterias. A las 72 horas de incubación, creció el hongo que fue objeto de este control.

Se solicitó a los laboratorios participantes la **identificación** del hongo implicado en este cuadro clínico, el **estudio de sensibilidad** si procedía, así como que formularan los **comentarios** que consideraran oportunos.

VALOR ASIGNADO

La cepa fue identificada como *Aspergillus fumigatus* (valor asignado de referencia y empleado para el estudio comparativo). Esta identificación se realizó mediante microscopía, espectrometría de masas (MALDI-TOF) y secuenciación del ARN ribosómico 18S.

Asimismo, la cepa control no crecía a 50°C, por lo que podría tratarse de un *Aspergillus fumigati*, especie críptica del grupo *A. fumigatus complex*.

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a 198 laboratorios participantes, de los que 174 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con resultados valorables. Así, el porcentaje de participación real fue del 87,9%, similar al de los controles M-1/18 (87,4%, un cultivo de *Rhodotorula mucilaginosa*) y M-1/17 (86,3%, un cultivo de *Microsporum canis*).

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC aceptó como válidas las identificaciones *A. fumigatus* y *Aspergillus* sección Fumigati (*A. fumigatus complex*). Así, un 82,1% de los participantes informaron *A. fumigatus* y otro 12,0% respondieron *A.* sección Fumigati, por lo que el 94,3% de los participantes identificaron correctamente el género y la especie del hongo remitido. El conjunto de todas las identificaciones informadas se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Resultados de la identificación micológica.

Identificación	Número	%
<i>Aspergillus fumigatus</i>	143	82,2
<i>Aspergillus</i> sección Fumigati (<i>A. fumigatus complex</i>)	21	12,1
Género <i>Aspergillus</i>	3	1,8
<i>Aspergillus flavus</i>	2	1,1
<i>Aspergillus niger</i>	2	1,1
<i>Aspergillus terreus</i>	2	1,1
<i>Aspergillus nidulans</i>	1	0,6
Total	174	100,0

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En cuanto a los métodos empleados para la identificación, hay una amplia variabilidad de técnicas informadas, aunque en su mayoría se basan en las características macroscópicas y microscópicas de la cepa con azul de lactofenol. Respecto al resto de los métodos, un 34,5% de los centros utilizaron la espectrometría de masas y otro

4,0% realizaron un estudio de secuenciación, en la mayoría de los casos combinados con la microscopía. La totalidad de los métodos informados se detalla en la tabla 2.

Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Cultivo + estudio macro-microscópico con azul de lactofenol	41	23,6
Estudio macro-microscópico + espectrometría de masas	25	14,4
Cultivo + estudio macro-microscópico	24	13,8
Espectrometría de masas + azul de lactofenol	19	10,9
Espectrometría de masas	16	9,2
Cultivo y microscopía	13	7,5
Cultivo + tinción con azul de lactofenol	12	6,9
Estudio macro-microscópico + secuenciación	4	2,3
Microscopía	4	2,3
Estudio macroscópico y microscópico	3	1,7
Estudio microscópico con azul de lactofenol	3	1,7
Características morfológicas + técnicas moleculares	2	1,1
Estudio macro-microscópico con azul de lactofenol	2	1,1
Microscopía + secuenciación	2	1,1
Crecimiento en Sabouraud	1	0,6
Estudio macro-microscópico con azul de metileno	1	0,6
Secuenciación	1	0,6
No informa	1	0,6
Total	174	100,0

Para la identificación del hongo filamentoso, únicamente 60 laboratorios (34,5%) recurrieron a un sistema comercial, que en todos los casos se basó en la espectrometría de masas. De estos 60 centros, hubo 46 (76,7%) que utilizaron el MALDI-TOF de Bruker y los otros 14 (23,3%) el de VITEK® MS, obteniendo todos ellos excelentes resultados. Estos datos se observan en la tabla 3. El único resultado discrepante obtenido con el MALDI-TOF de Bruker correspondió a un centro que informó *Aspergillus nidulans*.

Tabla 3. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial	Número	% uso	% acierto
------------------	--------	-------	-----------

MALDI-TOF (Bruker)	46	76,7	97,8
MALDI-TOF (VITEK® MS)	14	23,3	100,0
Total	60	100,0	98,3

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIFUNGICOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 174 centros que realizaron una identificación mínima de género *Aspergillus*. De ellos, 149 no realizaron el estudio de sensibilidad, por lo que se analizaron un total de 25 antifungigramas.

La tendencia mayoritaria fue determinar la CMI mediante las tiras de gradiente de concentración, que fueron utilizadas por el 60,0% de los centros que realizaron antifungigrama (52,0% como único método). A continuación, le sigue la microdilución, realizada por el 48,0% de los participantes con antifungigrama y, de forma exclusiva, por el 40,0% de los mismos. Estos datos se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Métodos empleados en el antifungigrama.

Método	Número	%
Tiras de gradientes de concentración	13	52,0
Microdilución	10	40,0
Microdilución + tiras de gradientes de concentración	2	8,0
Total	25	100,0

Respecto a las marcas empleadas para obtener las CMIs o las concentraciones críticas, el sistema comercial más utilizado fue el Sensititre™ (44,0%), seguido de las tiras de E-test® de bioMérieux y MIC Test Strip de Liofilchem® (24,0% cada una). El conjunto de las marcas empleadas se detalla en la tabla 5.

Tabla 5. Marcas empleadas en el antifungigrama.

Marca	Número	%
Sensititre™ (Thermo Scientific)	11	44,0
E-test® (bioMérieux)	6	24,0
MIC Test Strip (Liofilchem®)	6	24,0
Manual (microdilución)	1	4,0
No específica ^a	1	4,0
Total	25	100,0

^aMétodos: tiras de gradiente de concentración.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS DE LOS PARTICIPANTES

Se solicitó a los participantes que informaran los criterios de puntos de corte utilizados para la interpretación de su antifungigrama. Así, de los 25 laboratorios con la identificación mínima de género *Aspergillus* que realizaron antifungigrama, 16 (64,0%) siguieron los criterios del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*), otros 8 (32,0%) se basaron en los del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*). Por último, hubo 1 centro (4,0%) que utilizó los criterios CLSI para algunos antifúngicos y los del EUCAST para otros. Estos datos se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Criterios seguidos para la interpretación de los resultados.

Criterio	Número	%
EUCAST	16	64,0
CLSI	8	32,0
CLSI + EUCAST	1	4,0
Total	25	100,0

Se solicitó a los participantes que categorizaran el valor obtenido tal cual en su antibiograma (halo inhibición o CMI) y, en el caso de que quisieran realizar una lectura interpretada de los resultados obtenidos para algún antifúngico que no se correspondiera con el patrón de resistencia intrínseca del microorganismo estudiado, que ésta la consignaran en el apartado de comentarios y no en la tabla de respuesta.

Los antibióticos informados por los participantes para los que no se dispone de valor asignado no son evaluados por parte del Programa CCS, por lo que aparecen en este AR sólo a modo informativo, sin efectos de comparación.

En el estudio de sensibilidad, el Programa CCS considera como resultados **NO aceptables**, los **errores máximos** de categorización (resultado obtenido en la categoría de sensible siendo el valor asignado resistente).

En la tabla 7 se resumen los resultados de las pruebas cualitativas de sensibilidad cuando el número de respuestas para un determinado antibiótico fue igual o superior a 10. En total, se han recibido resultados correspondientes a 9 antifúngicos diferentes, de los cuales tan sólo 5 se han informado por más de 10 participantes. Esta tabla se pone de modo descriptivo, ya que no se dispone de valor asignado para ninguno de estos antifúngicos.

Tabla 7. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.

Antibiótico	Nº	Categorización ^a				
		Sensible	Intermedi o/SDD	Resistente	No interpreta	Evidencia insuficiente
Anfotericina B	23	19 (82,6)	1 (4,4)	0	3 (13,0)	0
Anidulafungina	10	3 (30,0)	0	1 (10,0)	6 (60,0)	0

Itraconazol	18	13 (72,2)	0	2 (11,1)	3 (16,7)	0
Posaconazol	19	14 (73,7)	0	2 (10,5)	3 (15,8)	0
Voriconazol	24	21 (87,5)	0	0	3 (12,5)	0

^aLos números entre paréntesis indican porcentajes sobre el total de ensayos para cada antibiótico. SDD: Sensible Dosis Dependiente.

UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO

Por lo que respecta a la necesidad de utilizar un laboratorio externo para la identificación del hongo objeto del control, de los 174 centros que emitieron un resultado evaluable: 167 (96,0%) comentan no utilizarlo, 3 (1,7%) afirmaron el haberlo usado y otros 4 (2,3%) lo usaron parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

El principal comentario se refería a las recomendaciones terapéuticas (5 centros), principalmente el tratamiento con voriconazol. Cuatro participantes señalaron que la cepa no crecía a 50°C, por lo que podría tratarse de una especie críptica perteneciente al complejo *A. fumigatus*.

Dos centros señalaron que la cepa presentaba un color negruzco, no típico de esta especie. Y, por último, dos centros recomendaron remitir nuevas muestras respiratorias para confirmar el aislamiento de *Aspergillus*.

Madrid, 30 de abril de 2019




C/ Agustín de Betancourt, 13
Entrepantana - 28003 Madrid
NIF: G-78387057

Concepción Gimeno Cardona

Coordinadora del Programa de Control de Calidad SEIMC

Nota: todos los comentarios o sugerencias generales, clínicas, microbiológicas o terapéuticas que los participantes han considerado oportuno indicar no son objeto de evaluación por parte del Programa CCS, por lo que este aspecto está fuera del alcance de la acreditación por ENAC.

Nota: las actividades subcontratadas por el Programa CCS son la tipificación de las cepas, necesaria para que desde el Programa se establezca el valor asignado a partir del consenso de resultados de dos laboratorios expertos, y los estudios de homogeneidad y estabilidad de las muestras levaduriformes provenientes de cada uno de los lotes, siguiendo una estricta programación de tareas. Si en un determinado momento se necesita subcontratar otras actividades diferentes a las indicadas se informará debidamente.

Cumpliendo con los requerimientos de la norma ISO/IEC 17043, las actividades subcontratadas que afectan a los resultados de las pruebas solicitadas y a los estudios de homogeneidad y estabilidad son realizadas por colaboradores externos, acreditados por la norma ISO 15189 o evaluados previamente por el Programa CCS según los criterios de la norma ISO 15189.

Nota: si los datos anteriores son incorrectos o consideran oportuno apelar los resultados, rogamos se dirijan a la Secretaría del Programa CCS.