

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOLOGÍA CONTROL M-1/19

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 líofilo 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 preparación de los líofilos 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 producto liofilizado con una única cepa. La historia clínica correspondía a la de un varón de 68 años con antecedentes de hábito tabáquico y *diabetes mellitus* tipo II que, tras sufrir una hemicolectomía derecha por neoplasia de colon, permaneció durante 10 días en la Unidad de Cuidados Intensivos, debiendo ser reintervenido a los seis días de dicho ingreso por una peritonitis fecaloidea tras dehiscencia de suturas. El paciente llevaba un catéter central por el que se le administraba nutrición parenteral total y tratamiento antibiótico de amplio espectro. A las 48 h de la segunda intervención, presentó un pico febril de 39,2°C con deterioro del estado general, escalofríos, taquicardia (120 latidos/minuto) y taquipnea (30 respiraciones/minuto). En la exploración física, se encontraba normotenso, con tendencia a la somnolencia, SatO₂ del 90% y sin sintomatología respiratoria ni urinaria. Destacaba una PCR de 25 mg/dL y una ligera leucocitosis con neutrofilia (94%). Ante la sospecha de una infección con criterios de gravedad, se le incluyó en el Protocolo de Manejo Integral de Sepsis Grave del hospital, se le extrajeron hemocultivos y se llevó a cabo la retirada del catéter central, cuya punta fue remitida al Servicio de Microbiología para el cultivo. A las 48 h de incubación creció el hongo que fue el 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 *Candida parapsilosis* (valor asignado de referencia y empleado para el estudio comparativo). Esta identificación se realizó mediante espectrometría de masas (MALDI-TOF) y fue confirmada por secuenciación del ARN ribosómico 18S.

Los resultados de sensibilidad antibiótica de referencia fueron obtenidos mediante microdilución y se muestran en la tabla 1. Como siempre, esta lista se incluye a título meramente informativo, como término de comparación para los participantes, sin que suponga una recomendación de uso en el tratamiento de las infecciones por esta levadura. Se emplearon para la interpretación de los resultados los criterios recogidos en el documento M27-S3 del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) correspondientes a la especie *C. parapsilosis*.

Tabla 1. Estudio de sensibilidad de consenso de expertos.

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización ^a	
		EUCAST	CLSI (M27S3-2018)
Anfotericina B	0,25	–	S
Anidulafungina	1	–	S
Caspofungina	0,5	–	S
Fluconazol	1	–	S
5-fluorocitosina	0,12	–	NI
Itraconazol	0,12	–	NI
Micafungina	1	–	S
Posaconazol	0,12	–	NI
Voriconazol	0,03	–	S

^aS: sensible, NI: no interpretada.

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a 200 laboratorios participantes, de los que 189 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con resultados valorables. Así, el porcentaje de participación real fue del 94,5%, superior al de los controles M-2/18 (87,9%, un cultivo de *Aspergillus fumigatus*) y M-1/18 (87,4%, un cultivo de *Rhodotorula mucilaginosa*).

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC consideró como respuesta válida únicamente la identificación correcta de género y especie (*C. parapsilosis*). Como se puede observar en la tabla 2, la gran mayoría de los centros (el 95,3%) identificaron correctamente la especie.

Tabla 2. Resultados de la identificación micológica.

Identificación	Número	%
<i>Candida parapsilosis</i>	180	95,3
<i>Candida no albicans</i>	4	2,1
<i>Candida glabrata</i>	2	1,1
<i>Candida famata</i>	1	0,5
<i>Candida tropicalis</i>	1	0,5
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	1	0,5
Total	189	100,0

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

Por lo que respecta a los métodos empleados en la identificación, destaca la espectrometría de masas (realizada por 106 centros, el 56,1%). Le siguen en frecuencia las pruebas bioquímicas (70 centros, el 37,0%) y el cultivo en medio de agar cromogénico (47 centros, el 24,9%). Dos centros (1,1%) realizaron un estudio de secuenciación para la identificación de la cepa. El conjunto de los métodos informados se recoge en la tabla 3.

Tabla 3. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Espectrometría de masas	84	44,5
Cultivo + pruebas bioquímicas	29	15,4
Espectrometría de masas + cultivo en medio cromogénico	19	10,1
Cultivo cromogénico + pruebas bioquímicas	17	9,0
Pruebas bioquímicas	14	7,4
Cultivo + test de filamentación + pruebas bioquímicas	9	4,7
Cultivo en medio cromogénico	9	4,7
Estudio macro-microscópico + espectrometría de masas	2	1,1
Secuenciación	2	1,1
Cultivo + test de filamentación	1	0,5
Cultivo cromogénico + filamentación + pruebas bioquímicas	1	0,5
Espectrometría de masas + bioquímica + cultivo cromogénico	1	0,5
Estudio macroscópico y microscópico	1	0,5
Total	189	100,0

Los sistemas comerciales basados en pruebas bioquímicas o espectrometría de masas que se han utilizado para la identificación se muestran en la tabla 4. Los más empleados fueron el MALDI-TOF de Bruker, informado por el 45,0% de los centros, seguido de la tarjeta VITEK®2 YST (20,2%) y del VITEK® MS (15,6%), ambos de bioMérieux. Todos estos sistemas comerciales obtuvieron unos excelentes resultados para identificar *C. parapsilosis*.

Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	78	45,0	100,0
VITEK®2 YST (bioMérieux)	35	20,2	97,2
MALDI-TOF (VITEK® MS)	27	15,6	100,0
Galerías API®			
API® 20 C AUX (bioMérieux)	13	7,5	92,3
API® CANDIDA (bioMérieux)	1	0,6	0,0
ID 32C (bioMérieux)	10	5,7	100,0
Auxa-Color™(Bio-Rad)	2	1,2	100,0
MicroScan	2	1,2	50,0
Phoenix™ Yeast ID (Becton-Dickinson)	2	1,2	100,0
RapID™ Yeast Plus (Remel, Thermo Scientific™)	2	1,2	100,0
No especifica ^a	1	0,6	100,0
Total	173	100,0	97,7

^aMétodos: pruebas bioquímicas.

La capacidad de los sistemas comerciales para identificar la cepa se resume en la tabla 5, observándose muy pocas identificaciones discrepantes.

Tabla 5. Resultados de identificación de *C. parapsilosis* con los sistemas comerciales más empleados.

Sistema	Número	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. famata</i>
MALDI-TOF (Bruker)	78	78 (100,0)	0	0	0
VITEK®2 YST	35	34 (97,2)	1 (2,8)	0	0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	27	27 (100,0)	0	0	0

API® 20 C AUX	13	12 (92,3)	0	1 (7,7)	0
ID 32C (bioMérieux)	10	10 (100,0)	0	0	0
Auxa-Color™(Bio-Rad)	2	2 (100,0)	0	0	0
MicroScan	2	1 (50,0)	0	0	1 (50,0)

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIFUNGICOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 180 centros que realizaron una identificación correcta de especie (*C. parapsilosis*). De ellos, 27 no realizaron el estudio de sensibilidad, por lo que se analizaron un total de 153 antifungigramas.

La tendencia mayoritaria fue determinar la CMI mediante microdilución en caldo, utilizada por el 85,6% de los participantes que realizaron antifungigrama y, de forma exclusiva, por el 82,3% de los mismos. En segundo lugar, destaca la determinación de la CMI mediante las tiras de gradiente de concentración, que fue efectuada por el 13,1% de los centros con antifungigrama (el 9,8% como único método). Los métodos de concentraciones críticas y de disco-placa fueron empleados cada uno solamente por el 2,6% de los centros que realizaron antifungigrama. Estos datos se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Métodos empleados en el antifungigrama.

Método	Número	%
Microdilución	126	82,3
Tira de gradientes de concentración	15	9,8
Concentraciones críticas	4	2,6
Microdilución + tira de gradientes de concentración	4	2,6
Disco-placa	2	1,3
Disco-placa + tira de gradientes de concentración	1	0,7
Microdilución + disco-placa	1	0,7
Total	153	100,0

Respecto a las marcas empleadas para obtener las CMIs o las concentraciones críticas, el sistema comercial más utilizado fue el panel Sensititre™ (49,3%), seguido de la tarjeta VITEK® 2 AST (36,0%) y de las tiras de E-test® (6,7%), ambas de bioMérieux. En 4 ocasiones (2,7%) no se especificó la marca comercial empleada. El conjunto de las marcas empleadas se detalla en la tabla 7.

Tabla 7. Marcas empleadas en el antifungigrama.

Marca	Número	%
Sensititre™ (ThermoScientific)	74	49,3
VITEK® 2 AST (bioMérieux)	54	36,0
E-test® (bioMérieux)	10	6,7
MIC Test Strip (Liofilchem®)	4	2,7
FUNGITEST™ (Bio-Rad)	3	2,0
ATB™ FUNGUS (bioMérieux)	1	0,6
No especifican ^a	4	2,7
Total	150	100,0

^aIncluyen: microdilución (2) y tiras de gradiente de concentración (2).

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS DE LOS PARTICIPANTES

Se solicitó a los participantes qué criterios de puntos de corte habían utilizado para la interpretación de su antifungigrama. Así, de los 153 laboratorios con la identificación de *C. parapsilosis* que realizaron antifungigrama, 98 (64,0%) utilizaron los criterios del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*), mientras que otros 39 centros (25,5%) se basaron en los criterios del CLSI. Hubo 12 centros (7,9%) que utilizaron los criterios CLSI para algunos antifúngicos y los del EUCAST para otros. Por último, los 4 laboratorios restantes (2,6%) se basaron en la bibliografía. Estos datos se muestran en la tabla 8.

Tabla 8. Criterios seguidos para la interpretación de los resultados.

Criterio	Número	%
EUCAST	98	64,0
CLSI	39	25,5
CLSI + EUCAST	12	7,9
Bibliografía	4	2,6
Total	153	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 antifúngicos 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 9 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 12 antifúngicos diferentes, de los cuales 9 se han informado por 10 o más participantes.

Tabla 9. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.

Antibiótico	Nº	Categorización ^a				
		Sensible	Intermedio/ SDD	Resistente	No interpreta	Evidencia insuficiente
Anfotericina B	141	136 (96,5)	3 (2,1)	0	2 (1,4)	0
Anidulafungina	82	37 (45,1)	41 (50,0)	4 (4,9)	0	0
Caspofungina	122	78 (64,0)	37 (30,3)	3 (2,5)	2 (1,6)	2 (1,6)
Fluconazol	152	145 (95,4)	5 (3,3)	2 (1,3)	0	0
5-fluorocitosina	58	48 (82,7)	0	0	10 (17,3)	0
Itraconazol	58	46 (79,3)	6 (10,3)	2 (3,5)	4 (6,9)	0
Micafungina	120	72 (60,0)	43 (35,8)	5 (4,2)	0	0
Posaconazol	63	50 (79,4)	0	7 (11,1)	6 (9,5)	0
Voriconazol	139	139 (100,0)	0	0	0	0

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

De forma mayoritaria, los participantes mostraron unos resultados concordantes con el valor asignado para la gran mayoría de los antifúngicos, siendo las candidas el grupo con mayor discrepancia, en posible relación a los puntos de corte empleados y a que esta especie presenta CMI altas a estos fármacos. Algunos laboratorios no interpretaron los resultados cuantitativos obtenidos por no existir puntos de corte establecidos para algunos de los antifúngicos estudiados.

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 189 centros que emitieron un resultado evaluable: 181 (95,8%) participantes comentan no utilizarlo, 1 (0,5%) afirma el haberlo usado y los 7 restantes (3,7%) lo usaron parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

El principal comentario se refería acerca de las recomendaciones terapéuticas (8 centros), principalmente el tratamiento con fluconazol junto con la retirada del catéter. Por otra parte, otros participantes comentaron que las equinocandinas estaban desaconsejadas en el tratamiento de la infección por *C. parapsilosis*, ya que esta especie de levaduras suele presentar unas CMI elevadas a este grupo de fármacos.

Por último, algunos centros especificaron que no se habían establecido puntos de corte para algunos antifúngicos en *C. parapsilosis*.

Madrid, 20 de noviembre de 2019



Controlcalidadseimc
C/ Agustín de Betancourt, 13
Entreplanta - 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.