

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOLOGÍA CONTROL M-2/19

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 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 varón de 60 años, que acudía a la consulta de Oftalmología tras una intervención de cataratas en el ojo derecho, desarrollando días después una úlcera corneal herpética en ese mismo ojo, por lo que había recibido tratamiento antiviral e injerto de esclera. Unos meses más tarde, acudía a urgencias con una úlcera corneal perforada en el ojo intervenido. En la consulta, a la lámpara de hendidura se observaba una conjuntiva hiperémica, edema e infiltrado corneal con una úlcera central. Se decidió realizar una biopsia de la úlcera, que se envió al Servicio de Microbiología. En el examen directo con azul de lactofenol se observaron hifas hialinas septadas. La muestra se sembró en placas de agar sangre y agar Sabouraud cloranfenicol que se incubaron a 35°C y 28°C respectivamente y se inició tratamiento tópico con natamicina 5% y voriconazol 1%, y oral con voriconazol 400 mg/día. A los pocos días de incubación, en los medios de cultivo crecieron múltiples colonias de un hongo micelial hialino que fue objeto del presente 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 *Purpureocillium lilacinum*, previamente denominada *Paecilomyces lilacinus* (valor asignado de referencia y empleado para el estudio comparativo). Esta identificación se realizó mediante estudio macro-microscópico con azul de lactofenol, espectrometría de masas y secuenciación del ARN ribosómico 18S.

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a 201 laboratorios participantes, de los que 171 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con resultados valorables, con lo que el porcentaje de participación real fue del 85,1%. Este porcentaje es inferior al del control M-1/19 (94,5%, *Candida parapsilosis*), aunque similar al del control M-2/18 (87,9%, *Aspergillus fumigatus*).

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC aceptó cómo válida la identificación correcta de género y especie (*P. lilacinum*) y como aceptable la identificación del género *Paecilomyces*. Así, un 65,5% de los participantes identificaron correctamente el género y la especie del hongo remitido, mientras que otro 22,8% respondió género *Paecilomyces*, con lo que el porcentaje de respuestas aceptables alcanzó el 88,3% (tabla 1).

Tabla 1. Resultados de la identificación micológica.

| Identificación | Número | % |
|--|--------|-------|
| <i>Purpureocillium lilacinum</i> (<i>Paecilomyces lilacinus</i>) | 112 | 65,5 |
| Género <i>Paecilomyces</i> | 39 | 22,8 |
| <i>Acremonium strictum</i> | 4 | 2,3 |
| Género <i>Fusarium</i> | 4 | 2,3 |
| Género <i>Penicillium</i> | 4 | 2,3 |
| Género <i>Verticillium</i> | 3 | 1,8 |
| <i>Fusarium solani</i> | 1 | 0,6 |
| Género <i>Acremonium</i> | 1 | 0,6 |
| <i>Metarhizium marquandii</i> (<i>Paecilomyces marquandii</i>) | 1 | 0,6 |
| <i>Penicillium marneffeii</i> | 1 | 0,6 |
| <i>Scopulariopsis brevicaulis</i> | 1 | 0,6 |
| Total | 171 | 100,0 |

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

04/05/2021. Modificación: Sustituye a AR-M-2/19 de fecha 11/05/2020. Errata en el nombre del hongo

M-2/19

En cuanto a los métodos empleados para la identificación, hubo 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, 76 centros (44,5%) utilizaron la espectrometría de masas, mientras que otros 3 participantes (1,8%) 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 | 39 | 22,8 |
| Espectrometría de masas + tinción de azul de lactofenol | 26 | 15,2 |
| Estudio macro-microscópico + espectrometría de masas | 26 | 15,2 |
| Espectrometría de masas | 24 | 14,0 |
| Cultivo + estudio macro-microscópico | 13 | 7,6 |
| Cultivo + tinción con azul de lactofenol | 10 | 5,8 |
| Cultivo y microscopía | 8 | 4,6 |
| Microscopía | 7 | 4,1 |
| Estudio macroscópico y microscópico | 6 | 3,5 |
| Estudio macro-microscópico + secuenciación | 2 | 1,2 |
| Secuenciación | 2 | 1,2 |
| Características macroscópicas | 1 | 0,6 |
| Crecimiento en Sabouraud | 1 | 0,6 |
| Cultivo + test de filamentación | 1 | 0,6 |
| Estudio macro-microscópico con azul de lactofenol | 1 | 0,6 |
| Estudio microscópico con azul de lactofenol | 1 | 0,6 |
| Manual | 1 | 0,6 |
| Microcultivo (laminocultivo) + microscopía | 1 | 0,6 |
| Microscopía + secuenciación | 1 | 0,6 |
| Total | 171 | 100,0 |

Para la identificación del hongo filamentoso, únicamente 75 laboratorios (43,9%) recurrieron a un sistema comercial, que en todos los casos se basó en la espectrometría de masas. De estos 75 centros, hubo 55 (73,3%) que utilizaron el MALDI-TOF de Bruker y los otros 20 (26,7%) el de VITEK® MS, obteniendo todos ellos excelentes

resultados. Estos datos se observan en la tabla 3. Los resultados discrepantes obtenidos con el MALDI-TOF de Bruker, como se detalla en la tabla 4, correspondían a 4 centros que informaron género *Paecilomyces*.

Tabla 3. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

| Método comercial | Número | % uso | % acierto |
|-----------------------|--------|-------|-----------|
| MALDI-TOF (Bruker) | 55 | 73,3 | 92,7 |
| MALDI-TOF (VITEK® MS) | 20 | 26,7 | 100,0 |
| Total | 75 | 100,0 | 94,7 |

Tabla 4. Resultados de identificación de *P.lilacinum* con los sistemas comerciales más empleados.

| Sistema | Número | <i>Purpureocillium lilacinum</i> | Género <i>Paecilomyces</i> |
|-----------------------|--------|----------------------------------|----------------------------|
| MALDI-TOF (Bruker) | 55 | 51 (92,7) | 4 (7,3) |
| MALDI-TOF (VITEK® MS) | 20 | 20 (100,0) | 0 |

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIFUNGICOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a todos los 151 centros que realizaron la identificación de *P. lilacinum* o del género *Paecilomyces*. De ellos, 133 no realizaron el estudio de sensibilidad, por lo que se analizaron un total de 18 antifungigramas.

La tendencia mayoritaria fue determinar la CMI mediante las tiras de gradiente de concentración, utilizadas por el 61,1% de los centros que realizaron antifungigrama, seguidas de la microdilución. Estos datos se muestran en la tabla 5.

Tabla 5. Métodos empleados en el antifungigrama.

| Método | Número | % |
|--|--------|-------|
| Tiras de gradientes de concentración | 9 | 50,0 |
| Microdilución | 7 | 38,9 |
| Microdilución + tiras de gradientes de concentración | 2 | 11,1 |
| Total | 18 | 100,0 |

Respecto a las marcas empleadas para obtener las CMI, los dos sistemas comerciales más utilizados fueron las tiras de E-test® de bioMérieux y el panel Sensititre™ (realizado cada uno por el 38,9% de los centros que efectuaron antifungigrama). El conjunto de las marcas empleadas en el estudio de sensibilidad se detalla en la tabla 6.

Tabla 6. Marcas empleadas en el antifungigrama.

| Marca | Número | % |
|---------------------------------|--------|-------|
| E-test® (bioMérieux) | 7 | 38,9 |
| Sensititre™ (Thermo Scientific) | 7 | 38,9 |
| MIC Test Strip (Liofilchem®) | 1 | 5,5 |
| Manual (microdilución) | 1 | 5,5 |
| No específica ^a | 2 | 11,2 |
| Total | 18 | 100,0 |

^aMétodos: microdilución (1), tiras de gradiente de concentración (1).

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 18 laboratorios con la identificación de *P. lilacinum* o de género *Paecilomyces*, 10 (55,5%) se basaron en los recogidos en la bibliografía, otros 5 (27,8%) utilizaron los criterios del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*), otros 2 (11,2%) se basaron en los del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*). Por último, hubo 1 centro (5,5%) que utilizó los criterios CLSI para algunos antifúngicos y los del EUCAST para otros. Estos datos se desglosan en la tabla 7.

Tabla 7. Criterios seguidos para la interpretación de los resultados.

| Criterio | Número | % |
|---------------|--------|-------|
| Bibliografía | 10 | 55,5 |
| EUCAST | 5 | 27,8 |
| CLSI | 2 | 11,2 |
| CLSI + EUCAST | 1 | 5,5 |
| Total | 18 | 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 8 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 10 antifúngicos diferentes, de los cuales tan sólo 7 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 8. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.

| Antibiótico | Nº | Categorización ^a | | | | |
|----------------|----|-----------------------------|-----------------|------------|---------------|------------------------|
| | | Sensible | Intermedio /SDD | Resistente | No interpreta | Evidencia insuficiente |
| Anfotericina B | 17 | 0 | 0 | 10 (58,8) | 6 (35,3) | 1 (5,9) |
| Anidulafungina | 12 | 0 | 0 | 5 (41,7) | 6 (50,0) | 1 (8,3) |
| Caspofungina | 15 | 0 | 0 | 8 (53,3) | 6 (40,0) | 1 (6,7) |
| Itraconazol | 12 | 1 (8,3) | 0 | 6 (50,0) | 4 (33,4) | 1 (8,3) |
| Miconazol | 10 | 0 | 0 | 6 (60,0) | 3 (30,0) | 1 (10,0) |
| Posaconazol | 13 | 6 (46,2) | 0 | 2 (15,4) | 4 (30,7) | 1 (7,7) |
| Voriconazol | 18 | 9 (50,0) | 0 | 1 (5,5) | 6 (33,3) | 2 (11,2) |

^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 171 centros que emitieron un resultado evaluable: 163 (95,4%) participantes comentan no utilizarlo, 3 (1,7%) afirman haberlo usado y otros 3 (1,7%) lo emplearon parcialmente. Por último, hubo 2 laboratorios (1,2%) que rellenaron la hoja de respuesta de forma manual sin aportar información al respecto.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Entre los comentarios más habituales de los participantes se encuentran los que hacen referencia a la pauta terapéutica (11 centros), aconsejándose con mayor frecuencia el tratamiento con voriconazol o posaconazol, siendo resistentes a la anfotericina B.

Por último, dos centros que realizaron antifungigrama comentaron que habían utilizado los puntos de corte descritos para *A. fumigatus*.

Madrid, 11 de mayo de 2020



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.