

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOLOGÍA CONTROL M-1/20

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 42 años, diagnosticado de granulomatosis de Wegener y portador de un Port-a-Cath® desde hace año y medio, que le permitía recibir terapia con ciclofosfamida y corticoides. El paciente acudió al Servicio de Urgencias de su hospital de referencia por presentar fiebre intermitente junto a escalofríos de 3 días de evolución y dolor torácico. No constaban antecedentes de episodios previos de infección del catéter. En el examen físico no se evidenciaron signos inflamatorios en zona externa del catéter. Se decidió la toma de dos parejas de frascos de hemocultivos de sangre periférica e iniciar cobertura antibiótica con vancomicina, meropenem y fluconazol y el ingreso del paciente. El resultado del hemocultivo resultó negativo a los 5 días. A las 36 horas de concluir la cobertura antibiótica, el paciente inició deterioro clínico, acompañado de dolor torácico y cuadro febril. Se decidió realizar un TAC de tórax donde se observaba imagen sugestiva de trombo en el extremo distal de la arteria pulmonar derecha con extensión a ramas interlobares, por lo que se realizó un ecocardiograma transesofágico, donde se observaron imágenes compatibles con vegetaciones. Por la sospecha de endocarditis fúngica, se decidió retirar el dispositivo intravascular mediante toracotomía y enviarlo al Servicio de Microbiología para su cultivo, creciendo a las 48 h el hongo 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.

M-1/20

VALOR ASIGNADO

La cepa fue identificada como *Candida glabrata* (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 un panel comercial de 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-S4 del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) correspondientes a la especie *C. glabrata*.

Tabla 1. Estudio de sensibilidad de consenso de expertos.

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización ^a	
		EUCAST	CLSI (M27S4-2012)
Anfotericina B	0,5	–	S
Anidulafungina	0,015	–	S
Caspofungina	0,03	–	S
Fluconazol	4	–	SDD
Micafungina	0,015	–	S

^aS: sensible, SDD: sensible dosis-dependiente.

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 198 laboratorios participantes, de los que 172 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con resultados valorables. Así, el porcentaje de participación real fue del 86,9%, similar al del último control de Micología controles (85,1%, *Purpureocillium lillacinum*), pero inferior a la participación del control M-1/19 (94,5%, *Candida parapsilosis*).

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC consideró solo como respuesta válida únicamente la identificación correcta de género y especie (*C. glabrata*). Como se puede observar en la tabla 2, la inmensa mayoría de los centros (97,1%) identificaron correctamente esta especie. El conjunto de las identificaciones informadas se detalla en la tabla 2.

Tabla 2. Resultados de la identificación micológica.

Identificación	Número	%
<i>Candida glabrata</i>	167	97,1
<i>Candida no albicans</i>	2	1,1
<i>Candida albicans</i>	1	0,6
<i>Candida parapsilosis</i>	1	0,6
Género <i>Candida</i>	1	0,6
Total	172	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 103 centros, el 59,9%). A continuación, le siguen las pruebas bioquímicas (57 centros, el 33,1%) y el cultivo en medio de agar cromogénico (46 centros, el 26,8%). Dos centros (1,1%) utilizaron 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	78	45,3
Cultivo + pruebas bioquímicas	24	14,0
Espectrometría de masas + cultivo en medio cromogénico	22	12,8
Cultivo cromogénico + pruebas bioquímicas	14	8,1
Pruebas bioquímicas	11	6,4
Cultivo en medio cromogénico	8	4,7
Cultivo + test de filamentación + pruebas bioquímicas	5	2,9
Estudio macro-microscópico + espectrometría masas	2	1,1
Secuenciación	2	1,1
Características macroscópicas	1	0,6
Crecimiento en Sabouraud	1	0,6
Cultivo + test de filamentación	1	0,6
Cultivo cromogénico + test de filamentación + pruebas bioquímicas	1	0,6
Espectrometría de masas + pr. bioquímicas + cultivo cromogénico	1	0,6
Test de filamentación + pruebas bioquímicas	1	0,6

M-1/20

Total	172	100,0
-------	-----	-------

Los sistemas comerciales basados en las pruebas bioquímicas o espectrometría de masas utilizados para la identificación se muestran en la tabla 4. Los más empleados fueron el MALDI-TOF de Bruker, informado por el 47,1% de los centros que emplearon un sistema comercial, seguido de la tarjeta VITEK®2 YST (18,5%) y del MALDI-TOF VITEK® MS (17,2%), ambos de bioMérieux. Todos estos sistemas comerciales obtuvieron unos excelentes resultados para identificar *C. glabrata*.

Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	74	47,1	98,6
VITEK®2 YST (bioMérieux)	29	18,5	100,0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	27	17,2	100,0
Galerías API®			
API® 20 C AUX (bioMérieux)	15	9,6	100,0
API® CANDIDA (bioMérieux)	1	0,6	100,0
ID 32C (bioMérieux)	1	0,6	100,0
Auxa-Color™ (Bio-Rad)	4	2,5	100,0
MicroScan	2	1,3	100,0
Phoenix™ Yeast ID (Becton-Dickinson)	2	1,3	50,0
RapID™ Yeast Plus (Remel, Thermo Scientific™)	2	1,3	100,0
Total	157	100,0	98,7

La capacidad de los sistemas comerciales mayoritarios para identificar la cepa se resume en la tabla 5. Todos estos sistemas identificaron correctamente la cepa remitida *C. glabrata* con la única excepción de dos resultados discrepantes obtenidos con una marca comercial diferente.

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

Sistema	Número	<i>C. glabrata</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. parapsilosis</i>
MALDI-TOF (Bruker)	74	73 (98,6)	0	1 (1,4)
VITEK®2 YST (bioMérieux)	29	29 (100,0)	0	0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	27	27 (100,0)	0	0
API® 20 C AUX (bioMérieux)	15	15 (100,0)	0	0
Auxa-Color™ (Bio-Rad)	4	4 (100,0)	0	0

M-1/20

MicroScan	2	2 (100,0)	0	0
Phoenix™ Yeast ID (BD)	2	1 (50,0)	1 (50,0)	0
RapID™ Yeast Plus (Remel)	2	2 (100,0)	0	0

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIFUNGICOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 167 centros que realizaron una identificación correcta de especie (*C. glabrata*). De ellos, 31 no realizaron el estudio de sensibilidad, por lo que se analizaron un total de 136 antifungigramas.

La tendencia mayoritaria fue determinar la CMI mediante microdilución en caldo, utilizada por el 83,8% 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 empleada por el 14,0% de los centros que realizaron antifungigrama (10,3% como único método). Por último, el método de disco-placa fue informado por el 4,4% de los centros que realizaron antifungigrama, mientras que el método de las concentraciones críticas fue empleado por un 1,5% de los participantes. Estos datos se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Métodos empleados en el antifungigrama.

Método	Número	%
Microdilución	112	82,3
Tira de gradientes de concentración	14	10,3
Disco-placa	3	2,2
Disco-placa + tira de gradientes de concentración	3	2,2
Concentraciones críticas	2	1,5
Microdilución + tira de gradientes de concentración	2	1,5
Total	136	100,0

Respecto a las marcas empleadas para obtener las CMIs o las concentraciones críticas, el sistema comercial más utilizado fue el panel Sensititre™ (52,3%), seguido de la tarjeta VITEK® 2 AST (31,1%) y de las tiras de E-test® (9,1%), ambas de bioMérieux. En 5 ocasiones (3,7%) 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™ (Thermo Scientific)	69	52,3
VITEK® 2 AST (bioMérieux)	41	31,1
E-test® (bioMérieux)	12	9,1
MIC Test Strip (Liofilchem®)	3	2,3
FUNGITEST™ (Bio-Rad)	2	1,5
No especifican ^a	5	3,7
Total	132	100,0

^aIncluyen microdilución (3) y tiras de gradiente de concentración (2).

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS DE LOS PARTICIPANTES

Se solicitó a los participantes información sobre los criterios de puntos de corte que habían utilizado para la interpretación de su antifungigrama. Así, de los 136 laboratorios con la identificación de *C. glabrata* que realizaron antifungigrama, 83 (61,0%) utilizaron los criterios del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*), mientras que otros 42 centros (30,9%) se basaron en los criterios del CLSI. Hubo 5 centros (3,7%) que emplearon los criterios CLSI para algunos antifúngicos y los del EUCAST para otros. Por último, los 6 laboratorios restantes (4,4%) 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	83	61,0
CLSI	42	30,9
Bibliografía	6	4,4
CLSI + EUCAST	5	3,7
Total	136	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 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 13 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	133	121 (91,0)	0	6 (4,5)	5 (3,8)	1 (0,7)
Anidulafungina	84	83 (98,8)	1 (1,2)	0	0	0
Caspofungina	110	91 (82,8)	12 (10,9)	5 (4,5)	2 (1,8)	0
Fluconazol	105	8 (7,6)	66 (62,9)	30 (28,6)	1 (0,9)	0
5-fluorocitosina	51	40 (78,4)	0	0	7 (13,7)	4 (7,9)
Itraconazol	50	9 (18,0)	11 (22,0)	10 (20,0)	10 (20,0)	10 (20,0)
Micafungina	114	113 (99,1)	0	0	1 (0,9)	0
Posaconazol	46	11 (23,9)	2 (4,3)	3 (6,5)	17 (37,0)	13 (28,3)
Voriconazol	95	38 (40,0)	3 (3,1)	18 (19,0)	17 (17,9)	19 (20,0)

^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, con la única excepción del fluconazol. La cepa presentaba una CMI a dicho antifúngico, según los dos laboratorios que actuaron de referencia, de 4-16 µg/mL. Estos valores de CMI serían intermedios según los puntos de corte de EUCAST y sensibles dosis-dependiente según CLSI.

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 172 centros que emitieron un resultado evaluable: 159 (92,5%) participantes comentan no utilizarlo, 7 (4,0%) afirma el haberlo usado y los 6 restantes (3,5%) lo usaron parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

El principal comentario (13 centros) se refería a que la cepa presentaba sensibilidad disminuida o resistencia al fluconazol. Así mismo, 5 centros realizaron recomendaciones terapéuticas, principalmente el tratamiento con una equinocandina asociada a la anfotericina B, junto con la retirada del catéter y la sustitución valvular.

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

Madrid, 30 de noviembre de 2020



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.

M-1/20