

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOLOGÍA CONTROL M-2/20

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 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 una paciente de 41 años que había sido diagnosticada de leucemia linfática aguda, y estaba ingresada en el hospital para recibir un tratamiento de quimioterapia citotóxica, a causa del cual desarrolló una intensa neutropenia. Comenzó con un cuadro respiratorio con fiebre termometrada de hasta 39°C, escalofríos y tos productiva con expectoración herrumbrosa. En la exploración física, la auscultación pulmonar revelaba crepitantes basales en ambos campos pulmonares y sibilancias espiratorias generalizadas. Como nota de interés, en la zona del hospital donde se encontraba ingresada se estaban realizando obras de reconstrucción importantes. En la analítica, presentaba un hematocrito del 24%, leucopenia con recuento leucocitario de 1110 leucocitos/ μ L (5% polimorfonucleares, 80% linfocitos, 10% monocitos, 5% blastos) y plaquetopenia (12.000 plaquetas/ μ L). En la radiografía de tórax se observaba una lesión en forma de “cuña” en pulmón izquierdo e infiltrado en lóbulo medio derecho. La TAC mostraba pequeños nódulos pulmonares y un ribete difuso. 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.

M-2/20

VALOR ASIGNADO

La cepa fue identificada como *Aspergillus fumigatus* (valor asignado de referencia y empleado para el estudio comparativo). Esta identificación se realizó mediante un estudio microscópico con azul de lactofenol y fue confirmada por secuenciación del ARN ribosómico 18S.

Asimismo, la cepa control no crecía a 50°C, por lo que podría tratarse de una especie críptica perteneciente al grupo *A. fumigatus*-complex (sección *Aspergillus* subgen. *fumigati*).

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a 198 laboratorios participantes, de los que 178 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con resultados valorables. Así, el porcentaje de participación real fue del 89,9%, similar al de los controles M-1/20 en el que se envió una *Candida glabrata* (86,9%, un cultivo de *Candida glabrata*) y M-2/19 (85,1%, un cultivo de *Purpureocillium lillacinum*).

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC aceptó como válidas las identificaciones *A. fumigatus* y *Aspergillus* sección *Fumigati* (*A. fumigatus*-complex). Así, un 78,7% de los participantes informaron *A. fumigatus* y otro 14,0% respondieron *A. sección Fumigati*, por lo que hubo un total del 92,7% de los participantes que 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>	140	78,7
<i>Aspergillus</i> sección <i>Fumigati</i> (<i>A. fumigatus</i> -complex)	25	14,0
<i>Aspergillus flavus</i>	4	2,2
Género <i>Aspergillus</i>	3	1,7
<i>Aspergillus niger</i>	2	1,1
<i>Aspergillus terreus</i>	2	1,1
<i>Aspergillus lentulus</i>	1	0,6
<i>Candida no albicans</i>	1	0,6
Total	178	100,0

M-2/20

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En cuanto a los métodos 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. Respecto al resto de los métodos, un 46,1% utilizaron la espectrometría de masas y otro 3,4% 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	%
Espectrometría de masas	34	19,1
Cultivo + estudio macro-microscópico con azul de lactofenol	32	18,0
Estudio macro-microscópico + espectrometría de masas	24	13,4
Espectrometría de masas + tinción azul de lactofenol	19	10,7
Características morfológicas y culturales	18	10,1
Cultivo + microscopía	10	5,6
Cultivo + tinción con azul de lactofenol	10	5,6
Cultivo + estudio macro- microscópico	8	4,5
Estudio microscópico con azul de lactofenol	4	2,2
Microscopía	4	2,2
Espectrometría de masas + características macroscópicas	3	1,7
Estudio macro-microscópico con azul de lactofenol	3	1,7
Estudio macro-microscópico + secuenciación	3	1,7
Espectrometría de masas + cultivo + secuenciación	2	1,1
Características morfológicas + pruebas bioquímicas	1	0,6
Cultivo en Sabouraud	1	0,6
Estudio macroscópico y microscópico	1	0,6
Secuenciación	1	0,6
Total	178	100,0

Para la identificación del hongo filamentoso, 82 laboratorios (46,1%) recurrieron a un sistema comercial, en todos los casos basado en la espectrometría de masas. De estos 82 centros, hubo 60 (73,2%) que utilizaron el MALDI-TOF de Bruker, otros 21 (25,6%) el de VITEK® MS, mientras que el centro restante (1,2%) no informó de la marca

de MALDI-TOF utilizada. Todos ellos obtuvieron unos excelentes resultados. El único resultado discrepante se obtuvo con el MALDI-TOF de Bruker correspondiendo a un solo centro que respondió *Aspergillus lentulus* (tabla 3).

Tabla 3. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	60	73,2	98,3
MALDI-TOF (VITEK® MS)	21	25,6	100,0
MALDI-TOF (no especifica)	1	1,2	100,0
Total	82	100,0	98,8

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIFUNGICOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a todos los 177 centros que realizaron una identificación mínima de género *Aspergillus*. De ellos, 130 no lo realizaron, por lo que se analizan 47 antifungigramas.

La tendencia mayoritaria fue determinar la CMI mediante las tiras de gradiente de concentración, utilizadas por el 59,6% de los centros que realizaron antifungigrama, el 40,4% como único método. En segundo lugar, destaca la microdilución, efectuada por el 46,8% de los centros con antifungigrama (36,2% de forma única). El método de disco-placa fue informado por el 10,6% de los centros, mientras que hubo 1 centro (2,1%) que remitió la cepa a un centro externo para el estudio de sensibilidad sin informar de esta premisa. Estos datos se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Métodos empleados en el antifungigrama.

Método	Número	%
Tiras de gradiente de concentración	19	40,4
Microdilución	17	36,2
Microdilución + tiras de gradiente de concentración	5	10,7
Disco-placa + tiras de gradiente de concentración	4	8,5
Disco-placa	1	2,1
No informa	1	2,1
Total	47	100,0

Respecto a las marcas empleadas para obtener las CMIs o las concentraciones críticas, los dos sistemas comerciales más utilizados fueron las tiras de Etest® de bioMérieux (37,8%) y el panel Sensititre™ (35,5%). El conjunto de las marcas empleadas en el antifungigrama se detalla en la tabla 5.

Tabla 5. Marcas empleadas en el antifungigrama.

Marca	Número	%
Etest® (bioMérieux)	17	37,8
Sensititre™ (Thermo Scientific™)	16	35,5
MIC Test Strip (Liofilchem®)	7	15,6
No específica marca ^a	5	11,1
Total	45	100,0

^aIncluyen microdilución (4) y 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 47 laboratorios con la identificación mínima de género *Aspergillus* que realizaron antifungigrama, 37 (78,7%) utilizaron los criterios del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*), otros 4 (8,5%) se basaron en los criterios del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*), y 2 centros (4,3%) utilizaron los criterios CLSI para algunos antifúngicos y los del EUCAST para otros. Por último, 1 laboratorio (2,1%) se basó en la bibliografía, mientras que los 3 laboratorios restantes (6,4%) no aportaron información al respecto. Estos datos se muestran en la tabla 6.

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

Criterio	Número	%
EUCAST	37	78,7
CLSI	4	8,5
CLSI + EUCAST	2	4,3
Bibliografía	1	2,1
No informa	3	6,4
Total	47	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 análisis de resultados 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 11 antifúngicos diferentes, de los cuales tan solo 8 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	Intermedio/ SDD	Resistente	No interpreta	Evidencia insuficiente
Anfotericina B	44	32 (72,7)	0	5 (11,4)	5 (11,4)	2 (4,5)
Anidulafungina	16	2 (12,5)	0	1 (6,2)	11 (68,8)	2 (12,5)
Caspofungina	23	8 (34,8)	0	1 (4,3)	11 (47,8)	3 (13,1)
Isavuconazol	23	16 (69,5)	0	1 (4,4)	4 (17,4)	2 (8,7)
Itraconazol	32	19 (59,4)	0	7 (21,9)	5 (15,6)	1 (3,1)
Miconazol	15	3 (20,0)	0	2 (13,3)	9 (60,0)	1 (6,7)
Posaconazol	31	21 (67,7)	0	3 (9,7)	5 (16,1)	2 (6,5)
Voriconazol	47	37 (78,7)	0	2 (4,3)	6 (12,7)	2 (4,3)

^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 178 centros que emitieron un resultado evaluable, 173 (97,2%) comentaron no utilizarlo, otros 2 (1,1%) afirmaron el haberlo usado y los 3 restantes (1,7%) lo usaron parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

El principal comentario se refería acerca de las recomendaciones terapéuticas (4 centros), principalmente el tratamiento con voriconazol. Tres centros comentaron que el antifungigrama realizado no estaba estandarizado, otros 2 laboratorios resaltaron que la cepa remitida no presentaba resistencia a los antifúngicos estudiados y otros 2 participantes especificaron que habían enviado la cepa a un centro externo para la realización del antifungigrama.

Por último, hubo 2 laboratorios que señalaron que la cepa no crecía a 50 °C, por lo que podría tratarse de una especie críptica perteneciente al complejo *A. fumigatus*.

Madrid, 27 de abril de 2021



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-2/20