

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOLOGÍA CONTROL M223

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 27 años, que acudía a urgencias de oftalmología por presentar en su ojo izquierdo dolor ocular punzante, fotofobia y pérdida de agudeza visual de hacía 48 horas de evolución. Como antecedentes de interés, el paciente había sido usuario de lentes de contacto blandas y había suspendido su uso un mes antes de que comenzasen los primeros síntomas. Ante la sospecha de una úlcera corneal herpética se inició tratamiento médico con aciclovir durante 10 días y se citó al paciente para su revisión. En la consulta, el paciente refería no notar mejoría. Se realizó una toma para cultivo de secreción corneal (que en 48 h permitió el aislamiento de *Escherichia coli*) y se le pautó otro tratamiento consistente en moxifloxacino alternado con netilmicina cada hora, lubricante ocular en gotas y también fluorometolona 4 veces al día durante 10 días. Dada la no respuesta al tratamiento, el paciente acudió de nuevo a urgencias de oftalmología, objetivándose con la lámpara de hendidura una úlcera corneal disciforme de aspecto cremoso, de color blanco-amarillento y bordes difusos; una conjuntiva hiperémica y edema perilesional. Se decidió realizar un raspado de la lesión, que se envió al Servicio de Microbiología para estudio bacteriológico y micológico. 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 que fue el objeto del control.

M223

El estudio de sensibilidad en el caso de los hongos filamentosos es una actividad NO amparada por la acreditación de ENAC.

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 denominado *Paecilomyces lilacinus* (valor asignado de referencia y empleado para el estudio comparativo). Esta identificación se realizó mediante cultivo y espectrometría de masas y fue confirmada por secuenciación del ARN ribosómico 18S.

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 199 laboratorios inscritos en Micología, de los que 183 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con resultados valorables. Así, el porcentaje de participación real fue del 92,0%, ligeramente inferior al del último control de Micología (96,5%, un cultivo de *Candida tropicalis*), pero superior a la del control M122 (80,4%, un cultivo de *Fusarium solani*).

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC consideró como respuesta válida únicamente la identificación correcta de género y especie (*P. lilacinum*). Como se puede observar en la tabla 1, la mayoría de los centros participantes (158 laboratorios, el 86,4%) identificaron correctamente dicha especie.

Tabla 1. Resultados de la identificación micológica.

Identificación	Número	%
<i>Purpureocillium lilacinum</i> (<i>Paecilomyces lilacinus</i>)	158	86,4
Género <i>Paecilomyces</i>	10	5,5
<i>Acremonium strictum</i>	3	1,7
Género <i>Acremonium</i>	2	1,1
<i>Paecilomyces variotii</i>	2	1,1
<i>Penicillium marneffeii</i> (<i>Talaromyces marneffeii</i>)	2	1,1
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	2	1,1
<i>Fusarium solani</i> complex	1	0,5

M223

El estudio de sensibilidad en el caso de los hongos filamentosos es una actividad NO amparada por la acreditación de ENAC.

Género <i>Trichosporon</i>	1	0,5
<i>Scedosporium prolificans</i> (<i>Lomentospora prolificans</i>)	1	0,5
<i>Trichosporon beigelii</i>	1	0,5
Total	183	100,0

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, con tinción de azul de lactofenol. Respecto al resto de los métodos utilizados, hubo un 56,3% (103 centros) que utilizaron la espectrometría de masas y un 6,0% (11 centros) un estudio de secuenciación. La totalidad de los métodos informados se detalla en la tabla 2.

Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Espectrometría de masas	41	22,4
Espectrometría de masas + tinción con azul de lactofenol	27	14,7
Espectrometría masas + estudio macro-microscópico	21	11,4
Cultivo + estudio macro-microscópico con azul de lactofenol	20	10,9
Cultivo + estudio macro-microscópico	16	8,7
Cultivo + microscopía	10	5,4
Espectrometría de masas + cultivo	7	3,8
Características morfológicas y culturales	5	2,7
Cultivo + tinción con azul de lactofenol	5	2,7
Espectrometría de masas + cultivo + secuenciación	4	2,2
Estudio macro-microscópico con azul de lactofenol	4	2,2
Espectrometría de masas + secuenciación	3	1,6
Estudio microscópico con azul de lactofenol	3	1,6
Microscopía + cultivo cromogénico	3	1,6
Cultivo en Sabouraud	2	1,1

M223

El estudio de sensibilidad en el caso de los hongos filamentosos es una actividad NO amparada por la acreditación de ENAC.

Estudio macro-microscópico con azul de Cotton	2	1,1
Secuenciación	2	1,1
Características morfológicas + pruebas bioquímicas	1	0,6
Cultivo + secuenciación	1	0,6
Cultivo +test de filamentación + pruebas bioquímicas	1	0,6
Cultivo cromogénico + test de filamentación + pruebas bioquímicas	1	0,6
Estudio macro-microscópico + secuenciación	1	0,6
Microscopía	1	0,6
tinción de Gram + tinción de azul de metileno	1	0,6
No informa	1	0,6
Total	183	100,0

Para la identificación del hongo filamentoso, 103 de los 183 centros (56,3%) recurrieron a la espectrometría de masas. De estos 103 laboratorios, 75 (72,8%) utilizaron el MALDI-TOF de Bruker y los otros 28 (27,2%) el MALDI-TOF de VITEK® MS. Estos datos se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF(Bruker)	75	72,8	97,4
MALDI-TOF(VITEK® MS)	28	27,2	100,0
Total	103	100,0	98,1

La capacidad de estos dos sistemas comerciales para identificar la cepa se resume en la tabla 4. Estos dos sistemas identificaron correctamente la cepa remitida de *P. lilacinum*, con algunos errores anecdóticos.

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

Sistema	Número	<i>P. lilacinum</i>	Género <i>Trichosporon</i>	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>
MALDI-TOF (Bruker)	75	73 (97,4)	1 (1,3)	1 (1,3)
MALDI-TOF (VITEK® MS)	28	100,0	0	0

El estudio de sensibilidad en el caso de los hongos filamentosos es una actividad NO amparada por la acreditación de ENAC.

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIFUNGICOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 170 centros que realizaron una identificación mínima de género *Purpureocillium* o de género *Paecilomyces*. De ellos, 140 no realizaron el estudio de sensibilidad, por lo que se analizaron un total de 30 antifungigramas.

La tendencia mayoritaria fue determinar la CMI mediante microdilución en 17 centros (56,7%), seguida de las tiras de gradiente de concentración, utilizadas por 16 centros (53,3%). Estos datos se muestran en la tabla 5.

Tabla 5. Métodos empleados en el antifungigrama.

Método	Número	%
Microdilución	13	43,4
Tiras de gradientes de concentración	12	40,0
Microdilución + tiras de gradiente de concentración	3	10,0
Concentración crítica + tiras de gradiente de concentración	1	3,3
Microdilución + disco-placa	1	3,3
Total	30	100,0

Respecto a las marcas empleadas para obtener las CMIs, los dos sistemas comerciales más utilizados fueron el panel Sensititre™ de Thermo Scientific™ (46,7%), seguido de las tiras de Etest® de bioMérieux (30,0%). El conjunto de las marcas empleadas en el antifungigrama se detalla en la tabla 6.

Tabla 6. Marcas empleadas en el antifungigrama.

Marca	Número	%
Sensititre™ (Thermo Scientific™)	14	46,7
Etest® (bioMérieux)	9	30,0
MIC Test Strip (Liofilchem®)	3	10,0
VITEK® 2 AST (bioMérieux)	1	3,3
No informa ^a	3	10,0
Total	30	100,0

^aMétodos: microdilución (2) y tiras de gradiente de concentración (1).

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS DE LOS PARTICIPANTES

El estudio de sensibilidad en el caso de los hongos filamentosos es una actividad NO amparada por la acreditación de ENAC.

Se solicitó a los participantes qué criterios de puntos de corte habían utilizado para la interpretación de su antifungigrama. Así, de los 30 laboratorios con la identificación mínima de género *Paecilomyces* o de género *Purpureocillium* que realizaron antifungigrama, 9 (30,0%) utilizaron los criterios del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*), otros 8 laboratorios (26,7%) se basaron en la bibliografía, mientras que otros 4 centros (13,3%) emplearon los criterios del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*), y un centro (3,3%) utilizó los criterios CLSI para algunos antifúngicos y los del EUCAST para otros. Por último, hubo 8 laboratorios (26,7%) que no aportaron información al respecto. Estos datos se muestran en la tabla 7.

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

Criterio	Número	%
EUCAST	9	30,0
Bibliografía	8	26,7
CLSI	4	13,3
CLSI + EUCAST	1	3,3
No informa	8	26,7
Total	30	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 12 antifúngicos diferentes, de los cuales 9 se han informado por 10 o más participantes.

El estudio de sensibilidad en el caso de los hongos filamentosos es una actividad NO amparada por la acreditación de ENAC.

Tabla 8. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.

Antibiótico	Nº	Categorización ^a				
		Sensible/ SDE	Intermedio/ SEI	Resistente	No interpreta	Evidencia insuficiente
Anfotericina B	28	0	1 (3,6)	13 (46,4)	13 (46,4)	1 (3,6)
Anidulafungina	22	0	0	12 (54,5)	10 (45,5)	0
Caspofungina	17	0	0	10 (58,8)	7 (41,2)	0
Fluconazol	15	0	0	9 (60,0)	6 (40,0)	0
Isaconazol	15	1 (6,7)	0	0	14 (93,3)	0
Itraconazol	21	0	1 (4,8)	8 (38,0)	11 (52,4)	1 (4,8)
Micafungina	14	1 (7,1)	0	7 (50,0)	6 (42,9)	0
Posaconazol	24	4 (16,6)	1 (4,2)	1 (4,2)	17 (70,8)	1 (4,2)
Voriconazol	30	9 (30,0)	1 (3,3)	0	19 (63,4)	1 (3,3)

^aLos números entre paréntesis indican porcentajes sobre el total de ensayos para cada antibiótico. Abreviaturas: SDE (Sensible dosis estándar), SEI (Sensible con exposición incrementada).

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 183 centros que emitieron un resultado evaluable: 172 (94,0%) participantes comentan no utilizarlo, otros 6 (3,3%) afirman el haberlo usado, y los 5 restantes (2,7%) lo usaron parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

El principal comentario (13 centros) se refería a que, en el caso de *P. lilacinum*, el antifungigrama no estaba estandarizado y que tampoco existían puntos de corte descritos, ni para el CLSI ni para el EUCAST.

Hubo 7 comentarios que hacían referencia a la pauta terapéutica, aconsejándose con mayor frecuencia el tratamiento con voriconazol.

El estudio de sensibilidad en el caso de los hongos filamentosos es una actividad NO amparada por la acreditación de ENAC.

Madrid, 13 de marzo de 2024



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.

M223