

## ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOLOGÍA CONTROL (M-2/15)

En el Análisis de Resultados del presente control se analizan los resultados obtenidos en el estudio micológico de la muestra enviada para control externo. Se trató de un liófilo 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 liófilos 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, quienes 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 una paciente de 59 años de edad, ingresada en la Unidad de Cuidados Intensivos por sufrir un grave empeoramiento de su estado general en las últimas 48 horas con deterioro importante de la función respiratoria, por lo que requirió de intubación y ventilación mecánica. Como antecedentes de interés, la paciente se encontraba en tratamiento quimioterápico por una leucemia diagnosticada hacía aproximadamente tres meses, siendo portadora de un catéter permanente para la administración de dicho tratamiento. Tras el ingreso en UCI, se procedió a la retirada del catéter, que junto a dos hemocultivos fueron remitidos al Servicio de Microbiología para estudio bacteriológico y micológico. A pesar de que se pautó tratamiento antibiótico de amplio espectro y fluconazol, e inicialmente hubo una leve mejoría clínica a las 48 horas, la paciente volvió a hacer un pico febril de 39,5°C, aislándose en la punta del catéter y en los hemocultivos el hongo objeto de este control.

Se solicitó a los laboratorios participantes la **identificación** del hongo implicado en este cuadro clínico, la realización del **estudio de sensibilidad** si procedía, así como que formularan los **comentarios** que consideraran oportunos.

## VALOR ASIGNADO

La cepa fue identificada como *Candida krusei* (valor asignado de referencia y empleado para el estudio comparativo). Esta identificación se realizó mediante espectrometría de masas (MALDI-TOF, Bruker) y fue confirmada por secuenciación del ARN ribosómico 16S.

Los resultados de sensibilidad antibiótica de referencia fueron obtenidos por microdilución (Sensititre™) 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 los criterios recogidos en los documentos M27-S3 y M27-S4 del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) y del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) correspondientes a la especie *C. krusei* para la interpretación de los resultados.

**Tabla 1. Estudio de sensibilidad de consenso de expertos.**

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización <sup>a</sup>	
		CLSI	EUCAST
Anfotericina B	0,5	NI	S
Anidulafungina	0,06	S	S
Caspofungina	0,25	S	S
Micafungina	0,125	S	NI
Fluconazol	16	R	R
Voriconazol	0,5	S	NI
Itraconazol	0,5	SD	NI
Posaconazol	1	NI	NI
5-fluorocitosina	8	I	NI

<sup>a</sup>S: sensible; SD: sensible dependiente de la dosis; I: intermedio; R: resistente, NI: no interpretada.

## PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 209 centros inscritos en el área de Micología, de los que 188 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con respuestas valorables. Así, el porcentaje de participación fue del 90,0%, idéntico al del último control.

## IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC consideró solo como respuesta válida la identificación correcta de género y especie (*C. krusei*). Como se puede observar en la tabla 2, la gran mayoría de los centros (el 98,0%) identificaron correctamente la especie. El resto de identificaciones se detallan en dicha tabla.

**Tabla 2. Resultados de la identificación micológica.**

Identificación	Número	%
<i>Candida krusei</i>	184	98,0
<i>Candida glabrata</i>	1	0,5
<i>Candida no albicans</i>	1	0,5
<i>Candida parapsilosis</i>	1	0,5
<i>Prototheca wickerhamii</i>	1	0,5
Total	188	100,0

## MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

Por lo que respecta a los métodos empleados en la identificación, las galerías de pruebas bioquímicas, principalmente comerciales (API, Vitek, etc.), fueron la técnica mayoritariamente utilizada por los participantes (112 centros, el 59,6%), de los que únicamente 23 (12,2%) las emplearon como único método. Los cultivos en medios cromogénicos fueron informados por 62 participantes (33,0%), aunque sólo en 14 casos (7,5%) de forma aislada. Por último, la espectrometría de masas fue empleada por 60 laboratorios (31,9%), de los que 37 (19,7%) informaron exclusivamente este método. Todos estos datos quedan reflejados en la tabla 3.

**Tabla 3. Métodos utilizados en la identificación.**

Método	Número	%
Cultivo + pruebas bioquímicas	54	28,7
Espectrometría de masas	37	19,7
Cultivo cromogénico + pruebas bioquímicas	32	17,0
Pruebas bioquímicas	23	12,2
Espectrometría de masas + cultivo cromogénico	15	8,0
Cultivo en medios cromogénicos	14	7,5
Estudio macro-microscópico + espectrometría masas	5	2,7
Espectrometría de masas + pruebas bioquímicas	2	1,1

**Programa de Control de Calidad SEIMC • Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**

c/ Agustín de Betancourt, 13. Entrepant. 28003 Madrid • Tel: 91.5310990 • Fax: 91.5227505 • Correo electrónico: ccs@seimc.org

Características macroscópicas	1	0,5
Características morfológicas + técnicas moleculares	1	0,5
Espectrometría de masas + pruebas bioquímicas + cultivo cromogénico	1	0,5
No informa	3	1,6
Total	188	100,0

Los sistemas comerciales utilizados en la identificación se muestran en la tabla 4. Los más empleados fueron el Maldi-Tof (agrupando Bruker y VITEK® MS) informado por el 35,1% de los centros, seguido de la tarjeta VITEK® 2 YST (29,1%) y de la galería API® 20 C AUX (16,3%), ambos de bioMérieux. En general, todos estos sistemas comerciales obtuvieron unos buenos resultados.

**Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.**

Marca comercial	Número	% uso	% acierto
Maldi-Tof (Bruker y VITEK® MS)	60	34,9	100,0
VITEK® 2 YST (bioMérieux)	50	29,1	98,0
Galerías API®			
API 20® C AUX (bioMérieux)	28	16,3	96,4
ID 32C	17	9,9	100,0
API® <i>Candida</i> (bioMérieux)	2	1,2	100,0
Auxa-Color™ (Bio-Rad)	6	3,5	100,0
MicroScan	5	2,9	80,0
Phoenix™ Yeast ID (Becton-Dickinson)	3	1,7	100,0
RapID™ Yeast Plus (Remel)	1	0,5	100,0
Total	172	100,0	98,2

La capacidad de los sistemas comerciales mayoritarios para identificar la cepa se resume en la tabla 5. Los mejores resultados se obtuvieron con el MALDI-TOF (Bruker y VITEK® MS) y con la galería AuxaColor™, ambos con un 100,0% de aciertos. Respecto al resto de sistemas comerciales mayoritarios, hubo un único resultado discrepante con cada uno de estos sistemas.

**Tabla 5. Resultados de identificación de *C. krusei* con los sistemas mayoritarios.**

Sistema	Número usuarios	<i>C. krusei</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>Candida no albicans</i>	<i>Prototheca wickerhamii</i>
Maldi-Tof	60	60 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
VITEK® 2 YST	50	49 (98,0)	0 (0,0)	1 (0,0)	0 (0,0)

API 20® C AUX	28	27 (96,4)	1 (3,6)	0 (0,0)	0 (0,0)
AuxaColor™	6	6 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
MicroScan	5	4 (80,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (20,0)

## RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIFUNGICOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 184 centros que realizaron una identificación correcta de especie (*C. krusei*). De ellos, 29 no realizaron el estudio de sensibilidad, por lo que se analizaron un total de 155 antifungigramas. La tendencia mayoritaria fue determinar la CMI mediante microdilución en caldo, utilizada por el 76,8% de los participantes que realizaron antifungigrama y, de forma exclusiva, por el 75,4% de los mismos. En segundo lugar, destaca la determinación de la CMI mediante las tiras de gradiente de concentración, que fue realizada por el 11,0% de los centros con antifungigrama (el 9% como único método). Por último, el método de concentraciones críticas fue empleado por el 8,4% de los participantes, mientras que el método de disco-placa se informó únicamente por el 6,5% de los centros que realizaron antifungigrama (tabla 6).

**Tabla 6. Métodos empleados en el antibiograma.**

Método	Número	%
Microdilución en caldo	117	75,4
Tiras gradiente concentración	14	9,0
Concentraciones críticas	12	7,7
Disco-placa	8	5,1
Concentraciones críticas + tiras gradiente concentración	1	0,7
Disco-placa + tiras gradiente concentración	1	0,7
Microdilución en caldo + disco-placa	1	0,7
Microdilución en caldo + tiras gradiente concentración	1	0,7
Total	155	100,0

Respecto a las marcas empleadas para obtener las CMIs o las concentraciones críticas, el sistema comercial más utilizado fue el Sensititre™ (46,3%), seguido del VITEK® 2 AST (35,6%) y del ATB™ FUNGUS (6,9%), ambos de bioMérieux. En 9 ocasiones (6,8%) no se especificó la marca comercial empleada. El conjunto de las marcas empleadas se detalla en la tabla 7. Hay que matizar que en el estudio de sensibilidad por tiras de concentración no se puede diferenciar por marcas (bioMérieux, Liofilchem y Oxoid), ya que no estaban disponibles en el desplegable de respuesta.

**Tabla 7. Marcas empleadas en el antifungigrama.**

Marca	Número	%
Sensititre™ (Thermo Scientific)	61	46,3
VITEK® 2 AST (bioMérieux)	47	35,6
ATB™ FUNGUS (bioMérieux)	9	6,8
FUNGITEST™ (Bio-Rad)	4	3,0
Preparación propia	2	1,5
No especifican	9	6,8
Total	132	100,0

## 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 155 laboratorios, con la identificación de *C. krusei*, que realizaron antifungigrama, 81 (52,3%) utilizaron los criterios del CLSI, otros 47 (30,3%) los del EUCAST. Hubo 24 centros (15,5%) que utilizaron los criterios CLSI para algunos antifúngicos y los del EUCAST para otros. Por último, los 3 laboratorios restantes (1,9%) 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	%
CLSI	81	52,3
EUCAST	47	30,3
CLSI y EUCAST	24	15,5
Bibliografía	3	1,9
Total	155	100,0

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.

**Tabla 9. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antifúngicos.**

Antifúngico	Número	Interpretación <sup>a</sup>				
		Sensible	SDD <sup>b</sup>	Intermedio	Resistente	No interpreta

**Programa de Control de Calidad SEIMC • Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**

c/ Agustín de Betancourt, 13. Entrepant. 28003 Madrid • Tel: 91.5310990 • Fax: 91.5227505 • Correo electrónico: ccs@seimc.org

5-fluorocitosina	80	9 (11,3)	1 (1,2)	32 (40,0)	26 (32,5)	12 (15,0)
Anfotericina B	141	120 (85,1)	0	4 (2,8)	10 (7,1)	7 (5,0)
Anidulafungina	76	70 (92,1)	0	0	6 (7,9)	0
Caspofungina	126	102 (81,0)	0	7 (5,6)	6 (4,7)	11 (8,7)
Fluconazol	136	2 (1,5)	2 (1,5)	4 (2,9)	118 (86,8)	10 (7,3)
Itraconazol	63	13 (20,6)	13 (20,6)	11 (17,5)	10 (15,9)	16 (25,4)
Micafungina	112	99 (88,4)	1 (0,9)	0	2 (1,8)	10 (8,9)
Posaconazol	56	31 (55,3)	2 (3,6)	0	2 (3,6)	21 (37,5)
Voriconazol	142	118 (83,1)	2 (3,6)	4 (5,6)	1 (3,6)	17 (37,5)

<sup>a</sup>Los números entre paréntesis indican porcentajes sobre el total de ensayos para cada antifúngico.

<sup>b</sup>SDD: Sensible Dependiente de la Dosis.

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 todos los casos los **errores máximos** de interpretación (resultado obtenido en la categoría de sensible siendo resistente el valor asignado) fueron considerados como no aceptables por parte del Programa CCS.

De forma mayoritaria, los participantes mostraron unos resultados concordantes con el valor asignado para la gran mayoría de los antifúngicos. Algunos laboratorios no interpretaron los resultados cuantitativos obtenidos por no existir puntos de corte establecidos para algunos de los antifúngicos estudiados.

Los porcentajes más bajos de concordancia ocurrieron con el itraconazol (20,6%) y la 5-fluorocitosina (40,0%). En el caso del itraconazol, en base al valor asignado, la cepa presentaba una CMI de 0,5 µg/mL, que sería sensible dependiente de la dosis aplicando los criterios recogidos en el documento M27-S3 del CLSI, que no diferencia entre las diferentes especies de *Candida*, mientras que EUCAST no ha establecido los puntos de corte en *C. krusei*. De modo similar, respecto a la 5-fluorocitosina, la cepa presentaba una CMI de 8 µg/mL, que sería intermedio según CLSI (documento M27-S3), mientras que EUCAST tampoco ha establecido puntos de corte.

Respecto al fluconazol, llama la atención que hubo 9 centros que informaron que la cepa de *C. krusei* remitida era sensible, sensible dependiente de la dosis o intermedio, cuando esta especie es intrínsecamente resistente al fluconazol. En cuanto a los 10 centros que no interpretaron el valor obtenido de CMI al fluconazol, únicamente 2 de ellos comentaron que esta especie era intrínsecamente resistente al fluconazol.

## UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO

Respecto a la necesidad de utilizar un laboratorio externo para la identificación de la cepa o para el estudio de sensibilidad, de los 188 participantes que enviaron hoja de respuesta se obtuvieron los siguientes datos: 171

**Programa de Control de Calidad SEIMC • Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**

c/ Agustín de Betancourt, 13. Entrepant. 28003 Madrid • Tel: 91.5310990 • Fax: 91.5227505 • Correo electrónico: ccs@seimc.org

laboratorios (91,0%) afirmaron no haberlo utilizado, 9 centros (4,8%) declararon haberlo requerido y 8 centros (4,2%) lo usaron parcialmente.

#### COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

El principal comentario (22 centros) se refería a que *C. krusei* era intrínsecamente resistente al fluconazol.

Otros comentarios mayoritarios fueron acerca de las recomendaciones terapéuticas (14 centros), principalmente el tratamiento con caspofungina u otra equinocandina (que fue el tratamiento más recomendado), o bien con anfotericina B liposomal o voriconazol. Algunos centros (10) especificaron los criterios que habían seguido para la interpretación de los diferentes antifúngicos, o bien que no se habían establecido puntos de corte para algunos de ellos en *C. krusei*.

Por último, otros centros manifestaron que no realizan antibiograma para levaduras o que, en caso de una muestra clínica, enviarían la cepa a un centro de referencia.

Madrid, 25 de noviembre de 2016

#### El Coordinador del Programa de Control de Calidad SEIMC

**Nota:** Si los datos anteriores son incorrectos o consideran oportuno apelar los resultados, rogamos se dirijan a la Secretaría del Programa CCS.

**Programa de Control de Calidad SEIMC • Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**

c/ Agustín de Betancourt, 13. Entreplanta. 28003 Madrid • Tel: 91.5310990 • Fax: 91.5227505 • Correo electrónico: [ccs@seimc.org](mailto:ccs@seimc.org)