

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOLOGÍA CONTROL M-2/16

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 liófilo 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 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 una paciente de 59 años de edad, que había sido sometida a varios ciclos de quimioterapia. Tras finalizar el último de los mismos, la paciente acudió a su hospital por presentar fiebre de 38,4°C, malestar general y artromialgias. Además, había advertido la aparición de algunas lesiones cutáneas y aftas bucales desde hacía unas horas. La exploración abdominal y la auscultación pulmonar no mostraron signos patológicos. El análisis de sangre mostró importante neutropenia. Se decidió el ingreso de la paciente, y se tomaron muestras de las aftas bucales así como dos hemocultivos que fueron remitidos al Servicio de Microbiología para cultivo bacteriológico y micológico. A las 24 horas de incubación, crecieron a partir de los dos hemocultivos y del exudado, 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.

VALOR ASIGNADO

La cepa fue identificada como *Candida albicans* (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 18S.

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

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

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 para la interpretación de los resultados los criterios recogidos en los documentos M27-A3 y M27-S4 del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) y los criterios del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) correspondientes a la especie *C. albicans*.

Tabla 1. Estudio de sensibilidad de consenso de expertos.

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización ^a	
		CLSI	EUCAST
Anfotericina B	0,25	S	S
Anidulafungina	0,015	S	S
Caspofungina	0,03	S	S
Micafungina	≤0,008	S	S
Fluconazol	0,5	S	S
Voriconazol	0,015	S	S
Itraconazol	0,125	NI	R
Posaconazol	0,06	NI	S
5-fluorocitosina	0,25	NI	NI

^aS: sensible; R: resistente; NI: no interpretada.

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a 205 laboratorios participantes, de los que 187 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con resultados valorables. Así, el porcentaje de participación real fue del 91,2%, similar al de M-2/15 (90,0%) en el que también se remitió un hongo levaduriforme (*Candida krusei*).

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC consideró como respuesta válida la identificación correcta de género y especie (*C. albicans*). Como se puede observar en la tabla 2, la gran mayoría de los centros (96,8%) identificaron correctamente la especie; el resto de identificaciones se detallan en dicha tabla.

Tabla 1. Resultados de la identificación micológica.

Identificación	Número	%
----------------	--------	---

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

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

<i>Candida albicans</i>	181	96,8
<i>Candida dubliniensis</i>	2	1,2
<i>Candida lusitanae</i>	1	0,5
<i>Candida no albicans</i>	1	0,5
<i>Prototheca wickerhamii</i>	1	0,5
<i>Trichomonascus ciferrii</i>	1	0,5
Total	187	100,0

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

Por lo que respecta a los métodos empleados en la identificación, destacan las pruebas bioquímicas (85 centros, el 45,5%), el cultivo en medio de agar cromogénico (83 centros, el 44,4%) y la espectrometría de masas (76 centros, el 40,7%). Un único centro (0,5%) realizó un estudio de secuenciación para la identificación de la cepa. El conjunto de todos los métodos informados se recoge en la tabla 3.

Tabla 3. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Espectrometría de masas	37	19,8
Espectrometría de masas + cultivo cromogénico	31	16,6
Cultivo cromogénico + pruebas bioquímicas	28	15,0
Cultivo en medios cromogénicos	22	11,8
Cultivo + filamentación + pruebas bioquímicas	21	11,2
Cultivo + pruebas bioquímicas	17	9,1
Pruebas bioquímicas	14	7,5
Cultivo + filamentación	4	2,1
Estudio macro-microscópico + espectrometría de masas	4	2,1
Espectrometría de masas + pruebas bioquímicas	2	1,1
Espectrometría de masas + pr. bioquímicas + cultivo cromogénico	2	1,1
Características morfológicas + técnicas moleculares	1	0,5
Filamentación + pruebas bioquímicas	1	0,5
Secuenciación	1	0,5
No informa	2	1,1

Total 187 100,0

Los sistemas comerciales utilizados en la identificación se muestran en la tabla 4. Los más empleados fueron el MALDI-TOF de Bruker (33,6%), seguido de la tarjeta VITEK® 2 YST (22,6%), de la galería API® 20 C AUX (14,4%) y del VITEK® MS (13,0%), todos ellos de bioMérieux. En general, todos estos sistemas comerciales obtuvieron unos excelentes resultados.

Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Marca comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	49	33,6	98,0
VITEK® 2 YST (bioMérieux)	33	22,6	97,0
Galerías API®			
API 20® C AUX (bioMérieux)	21	14,4	100,0
ID 32C (bioMérieux)	14	9,6	100,0
API® <i>Candida</i> (bioMérieux)	1	0,7	100,0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	19	13,0	94,7
Auxa-Color™ (Bio-Rad)	4	2,7	100,0
MicroScan	4	2,7	75,0
Phoenix™ Yeast ID (Becton-Dickinson)	1	0,7	100,0
Total	146	100,0	97,3

La capacidad de los sistemas comerciales para identificar la cepa se resume en la tabla 5. Los mejores resultados se obtuvieron con las galerías API® y AuxaColor™, todas con un 100,0% de aciertos. Respecto al resto de sistemas comerciales mayoritarios, hubo un único resultado discrepante con cada uno de ellos.

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

Sistema	Número usuarios	<i>C. albicans</i>	<i>C. lusitanae</i>	<i>C. no albicans</i>	<i>Prototheca wickerhamii</i>	<i>Trichomonascus ciferrii</i>
MALDI-TOF (Bruker)	49	48 (98,0)	0 (0,0)	1 (2,0)	0 (2,0)	0 (0,0)
VITEK® 2 YST	33	32 (97,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (3,0)
API 20® C AUX	21	21 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
VITEK® MS	19	18 (94,7)	1 (5,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
ID 32C	14	14 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
AuxaColor™	4	4 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	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 181 centros que realizaron una identificación correcta de especie (*C. albicans*). De ellos, 26 no informaron 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 75,5% de los participantes que realizaron antifungigrama y, de forma exclusiva, por el 73,5% de los mismos. En segundo lugar, destaca la determinación de la CMI mediante las tiras de gradiente de concentración, que fue realizada por el 16,2% de los centros (9,7% como único método). El método de disco-placa se informó por el 9,7% de los centros que realizaron antifungigrama, mientras que el método de concentraciones críticas fue empleado por el 3,9%. Todos los datos se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Microdilución en caldo	114	73,5
Tiras gradiente concentración	15	9,7
Disco-placa	9	5,8
Disco-placa + tira de gradientes de concentración	6	3,9
Concentraciones críticas	5	3,2
Microdilución en caldo + tiras gradiente concentración	3	1,9
Concentraciones críticas + tiras gradiente concentración	1	0,7
No informa	2	1,3
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™ (50,0%), seguido del VITEK® 2 AST (29,9%) y de las tiras de E-test® (12,5%), ambos de bioMérieux. En 2 ocasiones (1,4%) 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)	72	50,0

VITEK® 2 AST (bioMérieux)	43	29,9
E-test® (bioMérieux)	18	12,5
ATB™ FUNGUS (bioMérieux)	3	2,1
FUNGITEST™ (Bio-Rad)	3	2,1
MIC Test Strip (Liofilchem®)	2	1,4
Preparación propia	1	0,6
No especifican	2	1,4
Total	144	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. albicans* que realizaron antifungigrama, 75 (48,4%) utilizaron los criterios del CLSI y 61 (39,5%) los del EUCAST. Hubo 16 centros (10,3%) que utilizaron los criterios CLSI para algunos antifúngicos y los del EUCAST para otros. Por último, hubo 2 laboratorios (1,2%) que se basaron en la bibliografía, mientras que el centro restante (0,6%) envió la cepa a un centro externo, desconociendo los criterios usados por este centro para la interpretación del antifungigrama. Estos datos se muestran en la tabla 8.

Tabla 8. Criterios seguidos para la interpretación de los resultados.

Criterio	Número	%
CLSI	75	48,4
EUCAST	61	39,5
CLSI y EUCAST	16	10,3
Bibliografía	2	1,2
Desconocido	1	0,6
Total	155	100,0

En total, se han recibido resultados correspondientes a 14 antifúngicos diferentes. 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.

Tabla 9. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antifúngicos.

Antifúngico	Número	Interpretación ^a				
		Sensible	SDD ^b	Intermedio	Resistente	No interpreta
5-fluorocitosina	89	79 (88,8)	0	0	0	10 (11,2)
Anfotericina B	136	133 (97,8)	0	0	2 (1,5)	1 (0,7)
Anidulafungina	78	75 (96,2)	0	0	2 (2,5)	1 (1,3)
Caspofungina	126	121 (96,0)	1 (0,8)	0	1 (0,8)	3 (2,4)
Fluconazol	155	146 (94,2)	0	1 (0,6)	8 (5,2)	0
Itraconazol	71	52 (73,3)	2 (2,8)	4 (5,6)	11 (15,5)	2 (2,8)
Ketoconazol	10	10 (100,0)	0	0	0	0
Micafungina	106	106 (100,0)	0	0	0	0
Posaconazol	66	55 (83,3)	1 (1,5)	0	4 (6,1)	6 (9,1)
Voriconazol	141	135 (95,8)	0	0	6 (4,2)	0

^aLos números entre paréntesis indican porcentajes sobre el total de ensayos para cada antifúngico.

^bSDD: 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 el antifungigrama se consideran resultados **NO Aceptables** los **errores máximos** de interpretación (resultado obtenido en la categoría de sensible siendo el valor asignado resistente). Los errores menores y mayores, siempre que no supongan un cambio importante en el tratamiento del microorganismo estudiado, se consideran aceptables.

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.

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 187 centros que emitieron un resultado evaluable: 176 (94,1%) participantes comentan no utilizarlo, 5 (2,7%) afirman el haberlo usado y los 6 restantes (3,2%) lo usaron parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

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

El principal comentario se refería a las recomendaciones terapéuticas (9 centros), principalmente el tratamiento con fluconazol o con una equinocandina. Algunos centros (7) 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. albicans*.

Tres centros manifestaron que la cepa no había crecido a 42°C, y otros 3 la variedad de la cepa remitida (*C. albicans* var. *africanum*).

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

Nota.- Todos los comentarios o sugerencias generales, clínicas, microbiológicas o terapéuticas que los participantes han considerado oportuno indicar, así como de lectura interpretada de antibiograma, no serán objeto de evaluación por parte del Programa CCS.

Madrid, 14 de junio de 2017

Concepción Gimeno Cardona

Coordinadora 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.

Nota: Las actividades subcontratadas por el Programa CCS son: el transporte de las muestras, el valor asignado, y los estudios de homogeneidad y estabilidad. Si en un determinado momento, se requiere la subcontratación de otras actividades diferentes a las indicadas anteriormente, serán debidamente informadas.

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