

## ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOLOGÍA CONTROL M-2/17

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 un paciente varón de 39 años, ingresado desde hacía 10 días en la Unidad de Cuidados Intensivos por politraumatismo grave habiendo requerido intubación y ventilación mecánica. En las últimas 24 horas había sufrido un empeoramiento de su estado general con deterioro de la función respiratoria. Durante su estancia en UCI había recibido tratamiento con meropenem por una bacteriemia asociada a un catéter venoso central (CVC) por *Klebsiella pneumoniae*. Era portador de una sonda urinaria permanente. Se tomaron muestras de orina y hemocultivos, que fueron remitidas al Servicio de Microbiología para cultivo bacteriológico y micológico. A las 48 horas creció, tanto en el urinocultivo como en las muestras de hemocultivo, 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 tropicalis* (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.

Los resultados de sensibilidad antibiótica de referencia fueron obtenidos por microdilución (Sensititre™ YeastOne) 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-S4 y M27-A3 del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*). No se pudo realizar interpretación por EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*), ya que el método empleado para la obtención del valor asignado no lo permitía.

**Tabla 1. Valor asignado del estudio de sensibilidad.**

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización <sup>a</sup>	
		CLSI	EUCAST
Anfotericina B	1	S	-
Anidulofungina	0,125	S	-
Caspofungina	0,125	S	-
Fluconazol	2	S	-
5-fluorocitosina	≤0,06	NI	-
Itraconazol	0,125	NI	-
Micafungina	0,03	S	-
Posaconazol	0,125	NI	-
Voriconazol	0,125	S	-

<sup>a</sup>S: sensible, R: resistente, NI: no interpretada.

## PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a 204 laboratorios participantes, de los que 182 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con resultados valorables. Ello supone un porcentaje de participación real del 89,2%, similar al de los controles M1-17 (86,3%, un cultivo de *Microsporium canis*) y M-2/16 (91,2%, un cultivo de *Candida albicans*).

## IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC consideró solo como respuesta válida la identificación correcta de género y especie (*C. tropicalis*). Como se puede observar en la tabla 2, la gran mayoría de los centros (96,7%) identificaron correctamente dicha especie. El conjunto de las identificaciones informadas se detalla en la tabla 2.

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

Identificación	Número	%
<i>Candida tropicalis</i>	176	96,7

<i>Candida albicans</i>	2	1,1
<i>Candida famata</i>	2	1,1
<i>Candida no albicans</i>	2	1,1
Total	182	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 97 centros, el 53,3%). A continuación, le siguen las pruebas bioquímicas (77 centros, el 42,3%) y el cultivo en medio de agar cromogénico (63 centros, el 34,6%). Un único centro (0,6%) realizó un estudio de secuenciación para la identificación de la cepa. El conjunto de los métodos informados para la identificación se recoge en la tabla 3.

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

Método	Número	%
Espectrometría de masas	56	30,7
Espectrometría de masas + cultivo en medio cromogénico	31	17,0
Cultivo cromogénico + pruebas bioquímicas	23	12,6
Cultivo + pruebas bioquímicas	22	12,1
Pruebas bioquímicas	14	7,7
Cultivo + filamentación + pruebas bioquímicas	9	5,0
Cultivo en medios cromogénicos	9	5,0
Estudio macro-microscópico + espectrometría de masas	4	2,1
Espectrometría de masas + pruebas bioquímicas	3	1,6
Espectrometría de masas + pruebas bioquímicas + cultivo cromogénico	3	1,6
Filamentación + pruebas bioquímicas	3	1,6
Características morfológicas + técnicas moleculares	1	0,6
Crecimiento en Sabouraud	1	0,6
Cultivo + filamentación	1	0,6
Cultivo y microscopía	1	0,6
Secuenciación	1	0,6
Total	182	100,0

Los sistemas comerciales basados en pruebas bioquímicas o espectrometría de masas que se han utilizado en la identificación se muestran en la tabla 4. Los más empleados fueron el MALDI-TOF de Bruker, informado por el 41,6% de los centros que utilizaron un sistema comercial, seguido de la tarjeta VITEK®2 YST (18,6%) y del VITEK® MS (14,3%), ambos de bioMérieux. Todos estos sistemas comerciales obtuvieron unos excelentes resultados para identificar *C. tropicalis*, con la excepción de la tarjeta VITEK®2 YST, con un porcentaje de aciertos del 93,4%, lo que se debe a que dos de los 30 centros que usaron este sistema identificaron la cepa como *Candida famata*.

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

Método comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	67	41,6	100,0
VITEK®2 YST (bioMérieux)	30	18,6	93,4
Galerías API®			
API 20® C AUX (bioMérieux)	18	11,2	100,0
ID 32C (bioMérieux)	11	6,8	100,0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	23	14,3	100,0
Auxa-Color™ (Bio-Rad)	4	2,5	100,0
Phoenix™ Yeast ID (Becton-Dickinson)	3	1,9	100,0
RapID™ Yeast Plus (Remel, Thermo Scientific™)	3	1,9	100,0
MicroScan	2	1,2	100,0
Total	161	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 los 176 centros que realizaron una identificación correcta de especie (*C. tropicalis*). De ellos, 33 no realizaron el estudio de sensibilidad, por lo que se analizaron un total de 143 antifungigramas.

La tendencia mayoritaria fue determinar la CMI mediante microdilución en caldo, utilizada por el 82,5% de los participantes que realizaron antifungigrama y, de forma exclusiva, por el 79,0% de los mismos. En segundo lugar, destaca la determinación de la CMI mediante las tiras de gradiente de concentración, que fue realizada por el 14,7% de los centros con antifungigrama (el 9,8% como único método). El método de disco-placa se informó únicamente por el 4,2% de los centros que realizaron antifungigrama, mientras que el método de concentraciones críticas fue empleado por otro 4,2% de los participantes. Estos datos se muestran en la tabla 5.

**Tabla 5. Métodos empleados en el antifungigrama.**

Método	Número	%
Microdilución en caldo	113	79,0
Tiras gradiente concentración	14	9,8
Concentraciones críticas	6	4,2
Microdilución en caldo + tiras gradiente concentración	4	2,8
Disco-placa + tira de gradientes de concentración	3	2,1
Disco-placa	2	1,4
Microdilución + disco-placa	1	0,7
Total	143	100,0

Respecto a las marcas empleadas para obtener las CMI's o las concentraciones críticas, el sistema comercial más utilizado fue el Sensititre™ (48,9%), seguido del VITEK® 2 AST (32,6%) y de las tiras de E-test® (9,2%). En 5 ocasiones (3,6%) no se especificó la marca comercial empleada. El conjunto de las marcas empleadas se detalla en la tabla 6.

**Tabla 6. Marcas empleadas en el antifungigrama.**

Marca	Número	%
Sensititre™ (Thermo Scientific)	69	48,9
VITEK® 2 AST (bioMérieux)	46	32,6
E-test® (bioMérieux)	13	9,2
ATB™ FUNGUS (bioMérieux)	4	2,9
FUNGITEST™ (Bio-Rad)	2	1,4
MIC Test Strip (Liofilchem®)	2	1,4
No especifican <sup>a</sup>	5	3,6
Total	141	100,0

<sup>a</sup>Incluyen tiras de gradiente de concentración (3) y microdilución (2).

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS DE LOS PARTICIPANTES

Se solicitó a los participantes que informaran los criterios de puntos de corte que habían utilizado para la interpretación de su antifungigrama. Así, de los 143 laboratorios con la identificación de *C. tropicalis* que realizaron

antifungigrama, 67 (46,9%) utilizaron los criterios del CLSI, 61 (42,6%) los del EUCAST, y 4 se basaron en la bibliografía (2,8%). Hubo 11 centros (7,7%) que utilizaron los criterios CLSI para algunos antifúngicos y los del EUCAST para otros.

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

Marca	Número	%
CLSI	67	46,9
EUCAST	61	42,6
CLSI + EUCAST	11	7,7
Bibliografía	4	2,8
Total	143	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 más de 10 participantes.

**Tabla 8. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.**

Antibiótico	Nº	Categorización <sup>a</sup>			
		Sensible	Intermedio / SDD	Resistente	No interpreta
5-fluorocitosina	75	61 (81,3)	0	0	14 (18,7)
Anfotericina B	131	125 (95,4)	0	3 (2,3)	3 (2,3)
Anidulafungina	76	61 (80,3)	0	15 (19,7)	0
Caspofungina	114	96 (84,2)	2 (1,7)	6 (5,3)	10 (8,8)
Fluconazol	143	136 (95,1)	2 (1,4)	5 (3,5)	0

Itraconazol	60	45 (75,0)	5 (8,3)	6 (10,0)	4 (6,7)
Micafungina	94	88 (93,6)	0	0	6 (6,4)
Posaconazol	54	38 (70,4)	0	8 (14,8)	8 (14,8)
Voriconazol	134	127 (94,8)	2 (1,5)	5 (3,7)	0

<sup>a</sup>Los 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. 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 182 centros que emitieron un resultado evaluable: 176 (96,8%) participantes comentan no utilizarlo, 3 (1,6%) afirman haberlo usado, y los 3 restantes (1,6%) lo emplearon parcialmente.

### COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

El principal comentario se refería acerca de las recomendaciones terapéuticas (7 centros), principalmente el tratamiento con fluconazol o equinocandinas, junto con retirada de la sonda urinaria.

Algunos centros (3) 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. tropicalis*. Por último, dos centros comentaron explícitamente que la cepa era resistente a la anidulafungina.

Madrid, 4 de junio de 2018

  
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 el transporte de las muestras, el valor asignado (consenso de expertos), y los estudios de homogeneidad y estabilidad de las muestras 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 17043, las actividades subcontratadas que afectan al valor asignado y a los estudios de homogeneidad 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.