

## ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOLOGÍA CONTROL M-1/18

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 la de una mujer de 79 años con antecedentes de hipertensión arterial y diabetes mellitus tipo 2, que presentaba una nefropatía diabética. La paciente había recibido durante tres años tratamiento con hemodiálisis y en el episodio actual se encontraba sometida a tratamiento con diálisis peritoneal (DP). Desde que había comenzado la DP, había presentado un episodio de peritonitis tratado de forma ambulatoria con vancomicina y ceftazidima intraperitoneal. En el episodio actual, acudió a su hospital de área por presentar un cuadro de una semana de evolución, con dolor abdominal difuso de intensidad moderada asociado a ligera distensión abdominal. La paciente refería empeoramiento de su estado general y sensación febril no termometrada en las últimas 24 h. A la exploración, se objetivaba abdomen duro y doloroso a la palpación con signos de irritación peritoneal. Se realizó una TAC abdominal que evidenciaba cambios inflamatorios en el peritoneo adyacente al catéter de DP. Se realizó estudio de líquido peritoneal, cuyo análisis citoquímico reveló una leucocitosis de predominio polimorfonuclear. Se remitió una muestra del líquido peritoneal al Servicio de Microbiología para cultivo bacteriológico y micológico y a las 48 horas de incubación creció el hongo que era 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 *Rhodotorula mucilaginosa* (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.

## PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a 198 laboratorios participantes, de los que 173 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con resultados valorables. Ello supone un porcentaje de participación real del 87,4%, similar al del control M-2/17 (89,2%, un cultivo de *Candida tropicalis*).

## IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC consideró solo como respuesta válida la identificación correcta de género y especie (*R. mucilaginosa*). Como se puede observar en la tabla 1, donde se detalla el conjunto de identificaciones aportadas por los centros participantes, la gran mayoría de los centros (el 97,6%) informaron correctamente dicha especie.

**Tabla 1. Resultados de la identificación micológica.**

Identificación	Número	%
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	169	97,6
<i>Candida kefyr</i>	1	0,6
<i>Candida krusei</i>	1	0,6
<i>Cryptococcus terreus</i>	1	0,6
<i>Trichosporon mucoides</i>	1	0,6
Total	173	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 101 centros, el 58,4%), seguida de las pruebas bioquímicas (68 centros, el 39,3%) y el cultivo en medio de agar cromogénico (63 centros, el 36,4%). Dos únicos centros (1,1%) realizaron un estudio de secuenciación para la identificación de la cepa. El conjunto de los métodos informados para la identificación se recoge en la tabla 2.

**Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.**

Método	Número	%
Espectrometría de masas	74	42,8
Cultivo + pruebas bioquímicas	41	23,7

Estudio macro-microscópico + espectrometría de masas	12	6,9
Pruebas bioquímicas	10	5,8
Espectrometría de masas + pruebas bioquímicas	8	4,6
Cultivo + Filamentación + pruebas bioquímicas	6	3,5
Espectrometría de masas + cultivo en medio cromogénico	5	2,9
Cultivo + estudio macro-microscópico	4	2,3
Características macroscópicas	3	1,7
Cultivo cromogénico + pruebas bioquímicas	3	1,7
Espectrometría de masas + azul lactofenol	2	1,1
Cultivo + estudio macro-microscópico con azul lactofenol	1	0,6
Cultivo en medios cromogénicos	1	0,6
Microscopía + secuenciación	1	0,6
Secuenciación	1	0,6
No informa	1	0,6
Total	173	100,0

Los sistemas comerciales basados en pruebas bioquímicas o espectrometría de masas que se han utilizado para la identificación se muestran en la tabla 3. Los más empleados fueron el MALDI-TOF de Bruker, informado por el 45,1% de los centros que utilizaron un sistema comercial, seguido de la tarjeta VITEK®2 YST (15,4%) y del VITEK® MS (14,8%), ambos de bioMérieux. Todos estos sistemas comerciales obtuvieron unos excelentes resultados para identificar la cepa de *R. mucilaginosa* enviada. Las dos únicas identificaciones discordantes obtenidas con los sistemas comerciales fueron un *Trichosporon mucoides* con el MALDI-TOF de Bruker, y un *Cryptococcus terreus* con el MicroScan.

**Tabla 3. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.**

Método comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	73	45,1	98,6
VITEK®2 YST (bioMérieux)	25	15,4	100,0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	24	14,8	100,0
Galerías API®			
API 20® C AUX (bioMérieux)	16	9,9	100,0
ID 32C (bioMérieux)	13	8,0	100,0

RapID™ Yeast Plus (Remel, Thermo Scientific™)	5	3,1	100,0
MicroScan	3	1,9	67,0
Phoenix™ Yeast ID (Becton-Dickinson)	2	1,2	100,0
Auxa-Color™ (Bio-Rad)	1	0,6	100,0
Total	162	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 169 centros que realizaron una identificación correcta de especie (*R. mucilaginosa*). De ellos, 101 no realizaron el estudio de sensibilidad, por lo que se analizaron un total de 68 antifungigramas.

La tendencia mayoritaria fue determinar la CMI mediante microdilución en caldo, utilizada por el 70,6% de los participantes que realizaron antifungigrama y, de forma exclusiva, por el 64,7% de los mismos. En segundo lugar, destaca la determinación de la CMI mediante las tiras de gradiente de concentración, que fue realizada por el 23,5% de los centros con antifungigrama (el 17,6% como único método). Por último, el método de disco-placa fue informado por el 10,3% de los centros que realizaron antifungigrama, mientras que el método de concentraciones críticas fue empleado por un 2,9% de los participantes. Estos datos se muestran en la tabla 4.

**Tabla 4. Métodos empleados en el antifungigrama.**

Método	Número	%
Microdilución	44	64,7
Tiras de gradientes de concentración	12	17,6
Disco-placa	5	7,4
Microdilución + tiras de gradientes de concentración	3	4,4
Concentración crítica	2	2,9
Disco-placa + tiras de gradientes de concentración	1	1,5
Microdilución + disco-placa	1	1,5
Total	68	100,0

Respecto a las marcas empleadas para obtener las CMIs o las concentraciones críticas, el sistema comercial más utilizado fue el Sensititre™ (55,6%), seguido del VITEK® 2 AST de bioMérieux (14,3%), de las tiras MIC Test Strip de Liofilchem® (11,1%), y de las tiras de E-test® de bioMérieux (9,5%). En 4 ocasiones (6,3%) no se especificó la marca comercial empleada. El conjunto de las marcas empleadas se detalla en la tabla 5.

**Tabla 5. Marcas empleadas en el antifungigrama.**

Marca	Número	%
Sensititre™ (Thermo Scientific)	35	55,6
VITEK® 2 AST (bioMérieux)	9	14,3
MIC Test Strip (Liofilchem®)	7	11,1
E-test® (bioMérieux)	6	9,5
ATB™ FUNGUS (bioMérieux)	2	3,2
No especifican <sup>a</sup>	4	6,3
Total	63	100,0

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

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS DE LOS PARTICIPANTES

Se solicitó a los participantes que informaran sobre los criterios de puntos de corte habían utilizados para la interpretación de su antifungigrama. Así, de los 68 laboratorios con la identificación de *R. mucilaginosa* que realizaron antifungigrama, 30 (44,1%) se basaron en la bibliografía, otros 21 (30,9%) utilizaron los criterios del EUCAST, mientras que otros 13 (19,1%) se basaron en los del CLSI. Por último, hubo 4 centros (5,9%) que utilizaron los criterios CLSI para algunos antifúngicos y los del EUCAST para otros. Estos datos se muestran en la tabla 6.

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

Marca	Número	%
Bibliografía	30	44,1
EUCAST	21	30,9
CLSI	13	19,1
CLSI + EUCAST	4	5,9
Total	68	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 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 14 antifúngicos diferentes, de los cuales 9 se han informado por más de 10 participantes. Esta tabla se expone 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 <sup>a</sup>			
		Sensible	Intermedio / SDD	Resistente	No interpreta
Anfotericina B	63	41 (65,1)	0	2 (3,2)	20 (31,7)
Anidulafungina	38	0	0	26 (68,4)	12 (31,6)
Caspofungina	52	1 (2,0)	0	36 (69,2)	15 (28,8)
Fluconazol	65	0	1 (1,5)	51 (78,5)	13 (20,0)
5-Fluorocitosina	46	29 (63,0)	0	2 (4,4)	15 (32,6)
Itraconazol	30	3 (10,0)	2 (6,7)	16 (53,3)	9 (30,0)
Micafungina	42	1 (2,4)	0	27 (64,3)	14 (33,3)
Posaconazol	30	5 (16,7)	0	8 (26,7)	17 (56,6)
Voriconazol	60	7 (11,7)	4 (6,6)	28 (46,7)	21 (35,0)

<sup>a</sup>Los 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 173 centros que emitieron un resultado evaluable: 163 (94,3%) participantes comentan no utilizarlo, 3 (1,7%) afirman el haberlo usado y los 7 restantes (4,0%) lo usaron parcialmente.

## COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

El principal comentario se refería acerca de las recomendaciones terapéuticas (23 centros), principalmente el tratamiento con anfotericina B liposomal, asociado en ocasiones a la 5-fluorocitosina, junto con retirada del catéter peritoneal. Muchos de estos centros señalan que *R. mucilaginosa* presenta resistencia intrínseca a los azoles y a las equinocandinas.

Otros centros (14) han señalado que no existían puntos de corte del antifungigrama en dicha especie.

Madrid, 13 de octubre 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.