

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOLOGÍA CONTROL M124

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 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 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, 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 una mujer de 78 años con antecedentes de enfermedad pulmonar obstructiva crónica, hipertensión arterial y fibrilación auricular que acudía a urgencias de su hospital de área por cuadro de malestar general, aumento de su disnea basal, tos con expectoración y febrícula. En la analítica destacaban 21.780 leucocitos/ μ L (82% segmentados) y la placa de tórax mostraba una imagen de neumonía bibasal que había justificado su ingreso; se le canalizó una vena periférica y se procedió al sondaje vesical, con extracción de hemocultivos y la determinación de antígenos de neumococo y *Legionella* en orina que fueron negativos. Se pautó piperacilina/tazobactam 2g/8h y metilprednisolona 40 mg/24 h por vía intravenosa en pauta descendente. A los diez días del ingreso y después de una evolución inicial favorable, presentó fiebre (38,5°C), hipotensión arterial y un cuadro confusional que fue inicialmente atribuido a una sobreinfección pulmonar. Se extrajeron nuevos hemocultivos que fueron remitidos al Servicio de Microbiología para cultivo bacteriológico y de hongos y se cambió el antibiótico a meropenem 500 mg/8h IV, suspendiéndose el tratamiento corticoideo. Se realizó una ecografía cardiaca que no evidenció vegetaciones. El cultivo de orina fue negativo. A las 48h de la extracción, se identificó a partir de los hemocultivos un aislado de *K. pneumoniae* productor de BLEE y la levadura que constituyó el objeto de este control.

M124

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 *Rhodotorula mucilaginosa*, especie previamente denominada *Rhodotorula rubra* (valor asignado de referencia y empleado para el estudio comparativo). Esta identificación se realizó mediante espectrometría de masas (MALDI-TOF) y fue confirmada por secuenciación del ARN ribosómico 18S.

Los resultados de sensibilidad antibiótica de referencia fueron obtenidos mediante un panel comercial de microdilución 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. Para la interpretación de los resultados, se emplearon los criterios de puntos de corte clínicos del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) y los del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) correspondientes a la especie *R. mucilaginosa*. Así, el valor asignado publicado en la web y empleado en los informes comparados de resultados (ICR) se basó en los puntos de corte clínicos de estos comités. En la tabla 1, además de dicha categorización, se añaden los puntos de corte epidemiológicos de CLSI (documento M57S-Ed4-2022) y los de la “guidance on interpretación of MICs for rare yeast without breakpoints” de EUCAST (marzo 2024).

Tabla 1. Valor asignado del estudio de sensibilidad (puntos corte clínicos) y categorización mediante puntos de corte epidemiológicos.

ANTIBIÓTICO	CMI (µg/mL)	CATEGORIZACIÓN VALOR ASIGNADO		CATEGORIZACIÓN	
		EUCAST (v 10.0-2020)	CLSI (M59-2019)	EUCAST (2024) ^a	CLSI (2022) ^b
Anfotericina B	1	No Interpretado	No Interpretado	Sensible con dosificación estándar	Sensible
Anidulafungina	>8	No Interpretado	Resistente	Resistente	Resistente
Caspofungina	>8	No interpretado	Resistente	No interpretado	Resistente
Isavuconazol	0,25	No interpretado	No interpretado	No interpretado	No interpretado
Micafungina	>8	No interpretado	Resistente	No interpretado	Resistente

^aEUCAST guidance on Interpretation of MICs for rare yeast without breakpoints in breakpoint tables (publicado el 05-03-2024). ^bCLSI: puntos de corte epidemiológicos (M57S-Ed4-2022).

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

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 192 laboratorios inscritos en Micología, de los que 177 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con resultados valorables. Así, el porcentaje de participación real fue del 92,2%, similar al del último control de Micología (92,0%, un cultivo de *Purpureocillium lilacinum*), y también similar al del control M123 (96,5%, un cultivo de *Candida tropicalis*).

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC consideró como respuesta válida únicamente la identificación correcta de género y especie (*R. mucilaginosa*). Como se puede observar en la tabla 2, la gran mayoría de los centros participantes (164 laboratorios, el 92,7%) identificaron correctamente esta especie.

Tabla 2. Resultados de la identificación micológica.

Identificación	Número	%
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> (<i>Rhodotorula rubra</i>)	164	92,7
Género <i>Rhodotorula</i>	5	2,9
<i>Rhodotorula glutinis</i>	4	2,3
<i>Candida no albicans</i>	2	1,1
<i>Cryptococcus gattii</i>	1	0,5
<i>Cryptococcus laurentii</i>	1	0,5
Total	177	100,0

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

Por lo que respecta a los métodos empleados para la identificación, destaca la espectrometría de masas (realizada por 144 centros, el 81,4%), le siguen en frecuencia las pruebas bioquímicas (26 centros, el 14,7%) y el cultivo en medio de agar cromogénico (9 centros, el 5,1%). Hubo 2 centros (1,1%) que realizaron un estudio de secuenciación para identificar la cepa. Por último, otros 2 centros (1,1%) no informaron de este dato, de los cuales uno de ellos envió la cepa a un centro externo. El conjunto de los métodos informados se muestra en la tabla 3.

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

Tabla 3. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Espectrometría de masas	104	58,7
Espectrometría de masas + cultivo	31	17,5
Cultivo + pruebas bioquímicas	13	7,3
Características morfológicas + pruebas bioquímicas	7	4,0
Espectrometría de masas + cultivo en medio cromogénico	4	2,2
Estudio macro-microscópico + espectrometría de masas	4	2,2
Cultivo cromogénico + pruebas bioquímicas	3	1,7
Pruebas bioquímicas	2	1,1
Cultivo + secuenciación	1	0,6
Cultivo + test de filamentación	1	0,6
Cultivo en medio cromogénico	1	0,6
Cultivo en Sabouraud	1	0,6
Espectrometría de masas + pruebas bioquímicas	1	0,6
Microscopía + cultivo en medio cromogénico	1	0,6
Secuenciación	1	0,6
No informa	2	1,1
Total	177	100,0

Los sistemas comerciales basados en la espectrometría de masas o en pruebas bioquímicas utilizados para la identificación de la cepa se muestran en la tabla 4. Los más empleados fueron el MALDI-TOF de Bruker, informado por el 59,6% de los centros que emplearon un sistema comercial, seguido del MALDI-TOF VITEK® MS (26,1%) y de la tarjeta VITEK®2 YST (8,1%), ambos de bioMérieux.

Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	96	59,6	98,0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	42	26,1	100,0
VITEK®2 YST (bioMérieux)	13	8,1	53,8

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

Microscan (Beckman Coulter)	4	2,5	50,0
Galerías API®:			
API® 20 C AUX (bioMérieux)	3	1,8	100,0
API® CANDIDA (bioMérieux)	1	0,6	100,0
RapID™ Yeast Plus (Remel, Thermo Scientific)	2	1,2	100,0
Total	161	100,0	93,8

La capacidad de los sistemas comerciales mayoritarios para identificar la cepa se resume en la tabla 5. De entre estos sistemas, los mayores aciertos fueron con el MALDI-TOF VITEK® MS, seguido del MALDI-TOF de Bruker. Así mismo, el índice de aciertos fue excelente con las galerías de pruebas bioquímicas API® 20 C AUX, API® CANDIDA (ambas de bioMérieux) y RapID™Yeast Plus (de Remel), si bien estos tres sistemas fueron empleados por muy pocos centros, por lo que no se pueden extraer conclusiones concluyentes.

Tabla 5. Resultados de identificación de *R. mucilaginosa* con los sistemas comerciales más empleados.

Sistema	Número	<i>R. mucilaginosa</i>	Género <i>Rhodotorula</i>	<i>R. glutinis</i>	Otras Identificaciones
MALDI-TOF (Bruker)	96	94 (98,0)	1 (1,0)	1 (1,0)	0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	42	42 (100,0)	0	0	0
VITEK®2 YST	13	7 (53,8)	2 (15,4)	3 (23,1)	1 (7,7) ^a
MicroScan (Beckman)	4	2 (50,0)	1 (25,0)	0	1 (25,0) ^b

^a*Cryptococcus laurentii* (1). ^b*Cryptococcus gattii* (1).

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIFUNGICOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 173 centros que realizaron una identificación mínima de género *Rhodotorula*. De ellos, 71 no realizaron el estudio de sensibilidad mientras que otros 24 centros no introdujeron ningún antifúngico en la aplicación, por lo que se analizaron así un total de 78 antifungigramas.

La tendencia mayoritaria fue determinar la CMI mediante microdilución en caldo, utilizada por el 71,8% de los participantes que realizaron antifungigrama y, de forma exclusiva, por el 67,9% de los mismos. En segundo lugar, se encuentran las tiras de gradiente de concentración, que fueron efectuadas por el 29,5% de los centros con antifungigrama (el 25,6% como único método). El conjunto de los métodos informados se muestra en la tabla 6.

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

Tabla 6. Métodos empleados en el antifungigrama.

Método	Número	%
Microdilución	53	67,9
Tiras de gradiente de concentración	20	25,6
Microdilución + tiras de gradiente de concentración	2	2,6
Microdilución + disco-placa + tiras de gradiente de concentración	1	1,3
No informa	2	2,6
Total	78	100,0

Respecto a las marcas empleadas para obtener las CMI's o las concentraciones críticas, el sistema comercial más utilizado fue el panel Sensititre™ (48,7%), seguido de las tiras de Etest® (24,4%) de bioMérieux y de la tarjeta VITEK® 2 AST (17,9%), también de bioMérieux. El conjunto de las marcas empleadas se detalla en la tabla 7.

Tabla 7. Marcas empleadas en el antifungigrama.

Marca	Número	%
Sensititre™ (Thermo Scientific)	38	48,7
Etest® (bioMérieux)	19	24,4
VITEK® 2 AST (bioMérieux)	14	17,9
MIC Test Strip (Liofilchem®)	1	1,3
MicroScan (Beckman)	1	1,3
No especifican ^a	5	6,4
Total	78	100,0

^aMétodos: microdilución (3) y no informa (2).

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS DE LOS PARTICIPANTES

Se solicitó a los participantes que informaran los criterios de puntos de corte utilizados para la interpretación de su antifungigrama. Así, de los 78 laboratorios con la identificación mínima de género *Rhodotorula* que realizaron antifungigrama, 30 (38,5%) utilizaron los criterios del EUCAST, mientras que 13 (16,6%) se basaron en los criterios del CLSI. Hubo 6 centros (7,7%) que utilizaron los criterios CLSI para algunos antifúngicos y los del EUCAST para otros. Por último, hubo 17 laboratorios (21,8%) que se basaron en la bibliografía, mientras que los 12 centros restantes (15,4%) no informaron de esta premisa. Estos datos se muestran en la tabla 8.

M124

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

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

Criterio	Número	%
EUCAST	30	38,5
Bibliografía	17	21,8
CLSI	13	16,6
CLSI + EUCAST	6	7,7
No informa	12	15,4
Total	78	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 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 10 antifúngicos diferentes, de los que todos ellos se informaron por 10 o más participantes.

Tabla 9. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.

Antibiótico	Nº	Categorización ^a				
		Sensible/ SDE	Intermedio/ SEI/SDD	Resistente	No interpreta	Evidencia insuficiente
5-fluorocitosina	23	11 (47,8)	0	0	11 (47,8)	1 (4,4)
Anfotericina B	74	37 (50,0)	0	1 (1,4)	31 (41,9)	5 (6,7)
Anidulafungina	54	0	0	23 (42,6)	28 (51,9)	3 (5,5)
Caspofungina	61	0	0	28 (45,9)	28 (45,9)	5 (8,2)
Fluconazol	68	1 (1,5)	0	37 (54,4)	28 (41,2)	2 (2,9)
Isavuconazol	28	2 (7,1)	0	1 (3,6)	21 (75,0)	4 (14,3)

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

Itraconazol	35	1 (2,9)	0	3 (8,6)	26 (74,3)	5 (14,2)
Micafungina	54	0	0	22 (40,7)	27 (50,0)	5 (9,3)
Posaconazol	39	1 (2,6)	0	6 (15,4)	27 (69,2)	5 (12,8)
Voriconazol	60	4 (6,7)	2 (3,3)	18 (30,0)	4 (6,7)	32 (53,3)

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

En esta ocasión, muchos laboratorios no interpretaron los resultados cuantitativos obtenidos de la CMI por no existir puntos de corte clínicos establecidos para 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 177 centros que emitieron un resultado evaluable: 164 (92,7%) participantes comentan no utilizarlo, 9 (5,1%) afirma el haberlo usado y los 4 restantes (2,2%) lo usaron parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

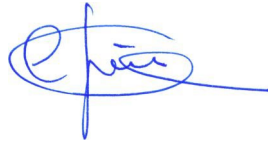
El principal comentario (25 centros) se refería a que *R. mucilaginosa* presentaba resistencia intrínseca al fluconazol y a las equinocandinas, recomendando el tratamiento con anfotericina B junto con la retirada del catéter. Dieciséis centros comentaron que ni CLSI ni EUCAST disponían de puntos de corte específicos de esta especie.

Respecto al significado clínico del aislamiento, 5 centros comentaron que consideraban que era un contaminante, mientras que otros 5 laboratorios comentaron que *R. mucilaginosa* era un patógeno oportunista en pacientes inmunodeprimidos o portadores de dispositivos, por lo que lo consideraban significativo.

Hubo 4 participantes comentaron la ausencia de crecimiento en el antifungigrama. Por último, 2 centros señalaron el crecimiento de colonias de color rosado a las 48 horas de incubación.

Madrid, 24 de septiembre de 2024

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



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.