

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOLOGÍA CONTROL M125

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 tubo de Sabouraud 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 siembra de tubos en medio Sabouraudy 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 de 67 años, que había sido diagnosticado de leucemia mieloide aguda recibiendo tratamiento quimioterápico a causa del cual había desarrollado neutropenia. Acudió al hospital por presentar un cuadro de fiebre con malestar general, tos con expectoración herrumbrosa y dolor de tipo pleurítico. En la exploración, el paciente mostraba regular estado general, fiebre termometrada de 38,7°C y disnea ante mínimos esfuerzos, revelando ala auscultación crepitantes de predominio en campos medio y superior sobre todo de pulmón derecho. La radiografía de tórax mostraba infiltrados pulmonares de predominio en lóbulo superior derecho y en la TAC torácica se objetivaba la presencia de lesiones focales con cavitación y consolidación segmentaria en lóbulo superior derecho. Se decidió recoger una muestra de broncoaspirado que fue remitida al Servicio de Microbiología para estudio bacteriológico y micológico. A las 72 horas de incubación comenzó a crecer el hongo que fue el objeto del presente control.

Se solicitó a los 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.

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

VALOR ASIGNADO

La cepa fue identificada como *Aspergillus fumigatus* (valor asignado de referencia y empleado para el estudio comparativo). Esta identificación se realizó mediante cultivo y espectrometría de masas y fue confirmada por secuenciación del ARN ribosómico 18S.

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 191 laboratorios inscritos en Micología, de los que 173 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con resultados valorables. Así, el porcentaje de participación real fue del 90,6%, similar al del último control de Micología (92,2%, un cultivo de *Candida albicans*), y superior a la del control M223 (80,4%, un cultivo de *Purpureocillium lilacinum*).

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC consideró como respuesta válida únicamente la identificación correcta de género y especie (*A. fumigatus*), incluyendo la respuesta *Aspergillus* sección Fumigati. Como se puede observar en la tabla 1, la mayoría de los centros participantes (167 laboratorios, el 96,5%) identificaron correctamente esta especie.

Tabla 1. Resultados de la identificación micológica.

Identificación	Número	%
<i>Aspergillus fumigatus</i>	149	86,1
<i>Aspergillus</i> sección Fumigati (<i>A. fumigatus</i> complex)	18	10,3
<i>Aspergillus flavus</i>	1	0,6
<i>Aspergillus nidulans</i>	1	0,6
<i>Aspergillus niger</i>	1	0,6
<i>Aspergillus terreus</i>	1	0,6
<i>Aspergillus versicolor</i>	1	0,6
Género <i>Aspergillus</i>	1	0,6
Total	173	100,0

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

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En cuanto a los métodos para la identificación, hubo una amplia variabilidad de técnicas informadas, aunque en su mayoría se basan en las características macroscópicas y microscópicas de la cepa, con tinción de azul de lactofenol. Respecto al resto de los métodos utilizados, hubo un 64,7% (112 centros) que utilizaron la espectrometría de masas y un 2,3% (4 centros) un estudio de secuenciación. La totalidad de los métodos informados se detalla en la tabla 2.

Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Espectrometría de masas	43	24,8
Espectrometría de masas + tinción con azul de lactofenol	39	22,5
Cultivo + estudio macro-microscópico con azul de lactofenol	17	9,8
Estudio macro-microscópico + espectrometría de masas	15	8,7
Espectrometría de masas + cultivo	12	6,9
Cultivo + microscopía	8	4,6
Cultivo + estudio macro-microscópico	7	4,0
Cultivo + tinción con azul de lactofenol	7	4,0
Características morfológicas y culturales	6	3,5
Estudio microscópico con azul de lactofenol	4	2,3
Estudio macro-microscópico con azul de lactofenol	3	1,7
Examen microscópico / en fresco	2	1,2
Cultivo + secuenciación	1	0,6
Cultivo en medio cromogénico	1	0,6
Espectrometría de masas + cultivo medio cromogénico	1	0,6
Espectrometría de masas + pruebas bioquímicas	1	0,6
Espectrometría de masas + secuenciación	1	0,6
Microscopía + cultivo medio cromogénico	1	0,6
Microscopía + secuenciación	1	0,6
Secuenciación	1	0,6

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

Tinción de Gram + azul de metileno	1	0,6
No informa	1	0,6
Total	173	100,0

Para la identificación del hongo filamentoso, 112 de los 173 centros (64,7%) recurrieron a la espectrometría de masas. De estos 112 laboratorios, 80 (71,4%) utilizaron el MALDI-TOF de Bruker y 31 (27,7%) el MALDI-TOF de VITEK® MS. El centro restante utilizó MALDI-TOF sin especificar junto con un panel de MicroScan, informando en la aplicación como marca este último sistema comercial. Estos datos se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF(Bruker)	80	71,4	98,8
MALDI-TOF(VITEK® MS)	31	27,7	100,0
No informado	1	0,9	100,0
Total	112	100,0	99,1

La capacidad de estos dos sistemas comerciales para identificar la cepa se resume en la tabla 4. Estos dos sistemas identificaron correctamente la cepa remitida de *A. fumigatus*, con un único error de especie en el caso del MALDI-TOF de Bruker.

Tabla 4. Resultados de identificación de *A. fumigatus* con los sistemas comerciales más empleados.

Sistema	Número	<i>A. fumigatus</i>	<i>Aspergillus</i> sección <i>Fumigati</i>	<i>A. flavus</i>
MALDI-TOF (Bruker)	80	68 (85,0)	11 (13,8)	1 (1,2)
MALDI-TOF (VITEK® MS)	31	29 (93,5)	2 (6,5)	0

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIFUNGICOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 173 participantes que realizaron una identificación mínima de género *Aspergillus*. De ellos, 105 no realizaron el estudio de sensibilidad, por lo que se analizaron un total de 68 antifungigramas.

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

La tendencia mayoritaria fue determinar la CMI mediante las tiras de gradiente de concentración, utilizadas por 46 centros (el 67,6% de los centros que realizaron antifungigrama), seguidas de la microdilución (23 centros, el 33,8%). Estos datos se muestran en la tabla 5.

Tabla 5. Métodos empleados en el antifungigrama.

Método	Número	%
Tiras de gradientes de concentración	41	60,3
Microdilución	20	29,5
Microdilución + tiras de gradiente de concentración	3	4,4
Disco-placa + tira de gradientes de concentración	2	2,9
No informa	2	2,9
Total	68	100,0

Respecto a las marcas empleadas para obtener las CMIs, los dos sistemas comerciales más utilizados fueron las tiras de Etest® de bioMérieux (47,1%), seguidas del panel Sensititre™ de Thermo Scientific™ (29,4%). El conjunto de las marcas empleadas para el antifungigrama se detalla en la tabla 6.

Tabla 6. Marcas empleadas en el antifungigrama.

Marca	Número	%
Etest® (bioMérieux)	32	47,1
Sensititre™ (Thermo Scientific™)	20	29,4
MIC Test Strip (Liofilchem®)	9	13,2
VITEK® 2 AST (bioMérieux)	1	1,5
No informa ^a	6	8,8
Total	68	100,0

^aMétodos: microdilución (2), tiras de gradiente de concentración (2) y no informado (2).

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 68 laboratorios con la identificación mínima de género *Aspergillus* que realizaron antifungigrama, 38 (55,9%) utilizaron los criterios del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial*

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

Susceptibility Testing), mientras que 19 (27,9%) emplearon los criterios del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*). Hubo 5 laboratorios (7,4%) que se basaron en la bibliografía y otros 2 (2,9%) que utilizaron los criterios del CLSI para algunos antifúngicos y los del EUCAST para otros. Por último, en 4 ocasiones (5,9%) no se aportó información al respecto. Estos datos se muestran en la tabla 7.

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

Criterio	Número	%
EUCAST	38	55,9
CLSI	19	27,9
Bibliografía	5	7,4
CLSI + EUCAST	2	2,9
No informa	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 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 analizan los resultados correspondientes a 9 antifúngicos diferentes.

Tabla 8. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.

Antibiótico	Nº	Categorización ^a				
		Sensible/ SDE	Intermedio/ SEI/SDD	Resistente	No interpreta	Evidencia insuficiente
Anfotericina B	61	45 (73,8)	0	4 (6,5)	12 (19,7)	0
Anidulafungina	26	4 (15,4)	0	2 (7,7)	16 (61,5)	4 (15,4)
Caspofungina	27	6 (22,2)	0	3 (11,1)	13 (48,2)	5 (18,5)

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

Fluconazol	20	0	0	18 (90,0)	2 (10,0)	0
Isaconazol	41	33 (80,5)	0	0	8 (19,5)	0
Itraconazol	47	38 (80,9)	0	0	9 (19,1)	0
Micafungina	21	3 (14,3)	0	2 (9,5)	13 (61,9)	3 (14,3)
Posaconazol	52	37 (71,2)	1 (1,9)	0	13 (25,0)	1 (1,9)
Voriconazol	66	59 (89,4)	0	0	7 (10,6)	0

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

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: 166 (96,0%) participantes comentan no utilizarlo, otros 3 (1,7%) afirman el haberlo usado, y los 4 restantes (2,3%) lo usaron parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Respecto al antifungigrama, 6 centros especificaron que utilizaron los puntos de corte epidemiológicos (ECOFF) y 3 señalaron que se trataba de una cepa *wild-type*. Por último, 3 participantes señalaron que no realizaban antifungigrama de hongos filamentosos.

Madrid, 26 de agosto de 2025



C/ Agustín de Betancourt, 13
Entreplanta - 28003 Madrid
NIF: G-78387057

M125

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

Todos los datos de este análisis han sido tratados confidencialmente y cumpliendo con los requisitos de la norma ISO 17043, independientemente de que se traten de áreas incluidas o no en el alcance de la acreditación por dicha norma.

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 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.

M125