

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOLOGÍA CONTROL M-1/22

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 liofilo 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 liofilos 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 de 48 años, politraumatizado tras un accidente de tráfico, que ingresaba en la Unidad de Cuidados Intensivos por daño cerebral y traumatismo torácico. El paciente presentó hemorragia cerebral y se le realizó craniectomía descompresiva. Además, era portador de múltiples accesos vasculares, a través de uno de los cuales se le administraba nutrición parenteral. El día 16 de ingreso presentó empeoramiento de su estado, con caída de constantes y pico febril de 39,8°C, por lo que se le extrajeron 2 frascos de hemocultivo a través de los distintos accesos vasculares y se enviaron al Servicio de Microbiología para cultivo bacteriológico y micológico. Los estudios de vigilancia de portadores que se realizaban semanalmente revelaron la presencia de una levadura con resistencia a los azoles. A las 48 h de incubación de los frascos de hemocultivo se aisló en todos ellos 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.

M-1/22

VALOR ASIGNADO

La cepa fue identificada como *Candida auris* (valor asignado de referencia y empleado para el estudio comparativo). Esta identificación se realizó mediante un cultivo en un medio de agar cromogénico y espectrometría de masas (MALDI-TOF), y fue refrendada por secuenciación del ARN ribosómico 18S.

Los resultados de sensibilidad antibiótica de referencia fueron obtenidos mediante un panel comercial de microdilución complementado con tiras de gradiente de concentración 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, dada la falta de criterios oficiales tanto por CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) como EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*), se han utilizado los criterios del CDC y la bibliografía (documento de la Universidad australiana de Adelaide, año 2021).

Tabla 1. Valor asignado del estudio de sensibilidad.

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización
		CDC / Bibliografía
Anfotericina B	1	Sensible
Anidulafungina	0,12	Sensible
Caspofungina	0,12	Sensible
Fluconazol	>256	Resistente
Isavuconazol	0,12	No interpretado

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 199 laboratorios participantes, de los que 187 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con resultados valorables. Así, el porcentaje de participación real fue del 94,0%, similar al del último control de Micología (90,2%, un cultivo de *Cryptococcus neoformans*).

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC consideró como respuesta válida únicamente la identificación correcta de género y especie (*C. auris*). Como se puede observar en la tabla 2, la gran mayoría de los centros (171, el 91,5%) identificaron correctamente dicha especie.

Tabla 2. Resultados de la identificación micológica.

Identificación	Número	%
<i>Candida auris</i>	171	91,5
<i>Candida guilliermondii</i>	3	1,7
<i>Candida duobushaemulonis</i>	2	1,1
<i>Candida famata</i>	2	1,1
<i>Candida glabrata</i>	2	1,1
<i>Candida krusei</i>	1	0,5
<i>Candida lusitaniae</i>	1	0,5
<i>Candida no albicans</i>	1	0,5
<i>Candida parapsilosis</i>	1	0,5
<i>Candida tropicalis</i>	1	0,5
<i>Cryptococcus laurentii</i>	1	0,5
<i>Saccharomyces cerevisiae</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, destaca la espectrometría de masas (realizada por 143 centros, el 76,5%). A continuación, le siguen las pruebas bioquímicas (35 centros, el 18,7%) y el cultivo en medio de agar cromogénico (22 centros, el 11,8%). Dos centros (1,1%) utilizaron un estudio de secuenciación para la identificación de la cepa. El conjunto de los métodos informados se recoge en la tabla 3.

Tabla 3. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Espectrometría de masas	116	62,0
Cultivo + pruebas bioquímicas	15	8,0
Espectrometría de masas + cultivo	14	7,5
Espectrometría de masas + cultivo en medio cromogénico	10	5,4
Pruebas bioquímicas	8	4,3

Cultivo cromogénico + pruebas bioquímicas	7	3,8
Cultivo en medio cromogénico	3	1,6
PCR a tiempo real	3	1,6
Cultivo + filamentación + pruebas bioquímicas	2	1,1
Espectrometría de masas + pruebas bioquímicas	2	1,1
Cultivo en medio cromogénico + filamentación + incubación 42-45°C	1	0,5
Cultivo + secuenciación	1	0,5
Estudio macro-microscópico + espectrometría de masas	1	0,5
Pruebas bioquímicas + incubación 42-45°C + cultivo cromogénico	1	0,5
Secuenciación	1	0,5
No informa	2	1,1
Total	187	100,0

Los sistemas comerciales basados en la espectrometría de masas, pruebas bioquímicas o métodos moleculares utilizados para la identificación se muestran en la tabla 4. Los más empleados fueron el MALDI-TOF de Bruker, informado por el 54,5% de los centros que emplearon un sistema comercial, seguido del MALDI-TOF VITEK® MS (25,0%) y de la tarjeta VITEK®2 YST (14,2%), ambos de bioMérieux.

Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	96	54,5	99,0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	44	25,0	97,7
VITEK®2 YST (bioMérieux)	25	14,2	80,0
API® 20 C AUX (bioMérieux)	5	2,8	40,0
FilmArray® (bioMérieux)	3	1,7	100,0
RapID™ Yeast Plus (Remel, Thermo Scientific™)	2	1,2	50,0
MicroScan	1	0,6	0,0
Total	176	100,0	93,2

La capacidad de los sistemas comerciales mayoritarios para identificar la cepa se resume en la tabla 5. Todos estos sistemas identificaron correctamente la cepa remitida de *C. auris*. Los porcentajes de identificaciones correctas han sido más bajos que en otros controles de levaduras probablemente debido a que esta especie no se encuentra en la base de datos de algunos de estos sistemas comerciales.

Tabla 5. Resultados de identificación de *C. auris* con los sistemas comerciales más empleados.

Sistema	Número	<i>Candida auris</i>	<i>Candida guilliermondii</i>	<i>Candida duobushaemulonis</i>	Otras Identificaciones
MALDI-TOF (Bruker)	96	95 (99,0)	1 (1,0)	0	0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	44	43 (97,7)	0	0	1 (2,3) ^a
VITEK®2 YST (bioMérieux)	25	20 (80,0)	2 (8,0)	2 (8,0)	1 (4,0) ^b
API® 20 C AUX (bioMérieux)	5	2 (40,0)	0	0	3 (60,0) ^c
FilmArray® (bioMérieux)	3	3 (100,0)	0	0	0
RapID™ Yeast Plus (Remel)	2	1 (50,0)	0	0	1 (50,0) ^d
MicroScan	1	0	0	0	1 (100,0) ^e

^a*Candida glabrata* (1).

^b*Cryptococcus laurentii* (1).

^c*Candida famata* (1), *Candida lusitanae* (1), *Saccharomyces cerevisiae* (1).

^d*Candida parapsilosis* (1).

^e*Candida famata* (1).

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIFUNGICOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 171 centros que realizaron una identificación correcta de especie (*C. auris*). De ellos, 27 no realizaron el estudio de sensibilidad y hubo otro centro que no introdujo ningún antifúngico en la aplicación, por lo que se analizaron un total de 143 antifungigramas.

La tendencia mayoritaria fue determinar la CMI mediante microdilución en caldo, utilizada por el 80,4% de los participantes que realizaron antifungigrama y, de forma exclusiva, por el 71,3% de los mismos. En segundo lugar, destaca la determinación de la CMI mediante las tiras de gradiente de concentración, que fue efectuada por el 23,8% de los centros con antifungigrama (el 14,0% como único método). Por último, el método de disco-placa fue informado por el 2,8% de los centros que realizaron antifungigrama, mientras que el método de las concentraciones críticas fue empleado por un 1,4% de los participantes. Estos datos se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Métodos empleados en el antifungigrama.

Método	Número	%
Microdilución	102	71,3
Tira de gradientes de concentración	20	14,0
Microdilución + tiras de gradiente de concentración	12	8,4
Concentración crítica	2	1,4
Disco-placa	2	1,4
Disco-placa + tira de gradientes de concentración	1	0,7
Microdilución + disco-placa + tiras de gradiente de concentración	1	0,7
No informa	3	2,1
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 panel Sensititre™ (56,9%), seguido de la tarjeta VITEK® 2 AST (24,1%) y de las tiras de Etest® (12,4%), ambas de bioMérieux. En 3 ocasiones (2,2%) no se especificó la marca comercial empleada. El conjunto de las marcas informadas se detalla en la tabla 7.

Tabla 7. Marcas empleadas en el antifungigrama.

Marca	Número	%
Sensititre™ (Thermo Scientific)	78	56,9
VITEK® 2 AST (bioMérieux)	33	24,1
Etest® (bioMérieux)	17	12,4
MIC Test Strip (Liofilchem®)	3	2,2
ATB™ Fungus (bioMérieux)	2	1,5
Micronaut (Merlin, Bruker)	1	0,7
No especifican ^a	3	2,2
Total	137	100,0

^aTodas obtenidas por microdilución.

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 143 laboratorios con la identificación de *C. auris* que realizaron antifungigrama, 88 (61,5%) utilizaron criterios del EUCAST, mientras que los 55 centros restantes (38,5%) se basaron en criterios del CLSI. Estos datos se muestran en la tabla 8.

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

Criterio	Número	%
EUCAST	88	61,5
CLSI	55	38,5
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 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 13 antifúngicos diferentes, de los cuales 10 se han informado 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	53	30 (56,6)	1 (1,9)	0	17 (32,1)	5 (9,4)
Anfotericina B	136	72 (52,9)	1 (0,7)	10 (7,4)	45 (33,1)	8 (5,9)
Anidulafungina	99	35 (35,4)	0	16 (16,1)	37 (37,4)	11 (11,1)
Caspofungina	117	52 (44,4)	1 (0,9)	12 (10,3)	44 (37,6)	8 (6,8)

M-1/22

Fluconazol	140	0	0	106 (75,7)	31 (22,1)	3 (2,2)
Isavuconazol	36	4 (11,1)	0	6 (16,7)	20 (55,5)	6 (16,7)
Itraconazol	68	7 (10,3)	2 (2,9)	12 (17,6)	39 (57,4)	8 (11,8)
Micafungina	113	52 (46,0)	0	12 (10,6)	41 (36,3)	8 (7,1)
Posaconazol	77	11 (14,3)	1 (1,3)	11 (14,3)	45 (58,4)	9 (11,7)
Voriconazol	120	6 (5,0)	2 (1,7)	47 (39,1)	56 (46,7)	9 (7,5)

^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, bastantes laboratorios no interpretaron los resultados cuantitativos obtenidos de la CMI por no existir puntos de corte 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 o para el estudio de sensibilidad, de los 187 centros que emitieron un resultado evaluable 165 (88,3%) participantes comentaron no utilizarlo, otros 10 (5,3%) afirmaron el haberlo usado y los 12 restantes (6,4%) lo usaron parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

El principal comentario (36 centros) se refería a que ni EUCAST ni CLSI disponían de puntos de corte clínicos específicos para la especie *C. auris*. La mayoría de estos centros habían seguido las recomendaciones del CDC para *C. auris*. Unos pocos centros utilizaron los puntos de corte de EUCAST basados en PK/PD para otras especies de *Candida*.

Hubo 11 centros que comentaron que la cepa remitida era resistente a los azoles o multirresistente. Así mismo, siete participantes realizaron diversas recomendaciones terapéuticas: isavuconazol solo o asociado a una equinocandina, anfotericina B con fluorocitosina o con una equinocandina. Algunos participantes desaconsejaron el tratamiento aislado con equinocandinas ya que la respuesta clínica solía ser desfavorable en esta especie. Cinco centros recomendaron el aislamiento del paciente.

Respecto a la identificación de *C. auris* con los sistemas comerciales, dos centros que emplearon la tarjeta VITEK®2 YST comentaron que con este sistema obtuvieron la identificación *Candida duobushaemuloni*. Así mismo, otros dos centros, uno que realizó el API® 20 C AUX y otro que usó el panel RapID™ Yeast Plus, comentaron que con estos sistemas obtuvieron la identificación *Rhodotorula glutinis*.

Madrid, 31 de agosto de 2022



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 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.

M-1/22