

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOLOGÍA CONTROL M-1/23

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 con el hongo a estudio, que había sidopreparado 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 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 paciente de 75 años, con leucemia mieloblástica aguda, en tratamiento con quimioterapia, que acudía a urgencias de su hospital por presentar fiebre de 38,5°C, malestar general, y empeoramiento de su estado general. A la exploración física, la paciente mostraba REG, ligera palidez cutáneo-mucosa, abdomen blando y depresible a la palpación sin masas ni megalias y auscultación cardiopulmonar sin hallazgos patológicos; el análisis de sangre mostraba una importante neutropenia. Se decidió realizar la extracción de dos tomas de hemocultivos, que fueron remitidos al Servicio de Microbiología; tras esto, se le instauró tratamiento empírico con vancomicina y ceftazidima. A pesar de ello, la paciente no evolucionaba bien, continuando con picos febriles. A las 48 horas de incubación, se aislaron levaduras en los frascos aerobios de los hemocultivos extraídos, que fueron el objeto de este control. Se procedió a su identificación y estudio de sensibilidad y se añadió al tratamiento que llevaba la paciente anfotericina B.

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) junto con un panel comercial de pruebas bioquímicas 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 del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) y del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) correspondientes a la especie *C. tropicalis*.

Tabla 1. Valor asignado del estudio de sensibilidad.

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización	
		EUCAST (V 10.0-2020)	CLSI (M59-2019)
Anfotericina B	0,5	Sensible con dosificación estándar	Sensible
Caspofungina	≤0,12	Sensible con dosificación estándar	Sensible
Fluconazol	1	Sensible con dosificación estándar	Sensible
Micafungina	≤0,06	Evidencia insuficiente	Sensible
Voriconazol	≤0,12	Sensible con dosificación estándar	Sensible

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 199 laboratorios inscritos en Micología, de los que 192 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con resultados valorables. Así, el porcentaje de participación real fue del 96,5%, superior al del último control de Micología (80,4%, un cultivo de *Fusarium solani*), aunque similar a la del control M-1/22 (94,0%, un cultivo de *Candida auris*).

M-1/23

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC consideró como respuesta válida únicamente la identificación correcta de género y especie (*C. tropicalis*). Como se puede observar en la tabla 2, la inmensa mayoría de los centros (185 laboratorios, el 96,4%) identificaron correctamente dicha especie.

Tabla 2. Resultados de la identificación micológica.

Identificación	Número	%
<i>Candida tropicalis</i>	185	96,4
<i>Candida parapsilosis</i>	3	1,6
<i>Candida albicans</i>	1	0,5
<i>Candida dubliniensis</i>	1	0,5
<i>Candida krusei</i>	1	0,5
<i>Candida no albicans</i>	1	0,5
Total	192	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 143 centros, el 74,5%). A continuación, le siguen el cultivo en medio de agar cromogénico (45 centros, el 23,4%) y las pruebas bioquímicas (43 centros, el 22,4%). Dos centros (1,1%) realizaron un estudio de secuenciación para identificar la cepa. El conjunto de los métodos informados se muestra en la tabla 3.

Tabla 3. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Espectrometría de masas	104	54,1
Espectrometría de masas + cultivo en medio cromogénico	20	10,4
Cultivo en medio cromogénico + pruebas bioquímicas	19	9,9
Espectrometría de masas + cultivo	15	7,8
Cultivo + pruebas bioquímicas	10	5,2
Pruebas bioquímicas	8	4,2
Cultivo en medio cromogénico	4	2,1
Características morfológicas + pruebas bioquímicas	2	1,1

Cultivo + secuenciación	2	1,1
Espectrometría de masas + pruebas bioquímicas	2	1,1
Características morfológicas y culturales	1	0,5
Cultivo cromogénico + test de filamentación + incubación 42-45°C	1	0,5
Cultivo + test de filamentación + pruebas bioquímicas	1	0,5
Cultivo cromogénico + pruebas bioquímicas + test de filamentación	1	0,5
Espectrometría de masas + estudio macro-microscópico	1	0,5
Espectrometría de masas + tinción azul de lactofenol	1	0,5
Total	192	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 54,8% de los centros que emplearon un sistema comercial, seguido del MALDI-TOF VITEK® MS de bioMérieux (22,9%) y de la tarjeta VITEK®2 YST (14,3%), también de bioMérieux.

Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	96	54,8	99,0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	40	22,9	100,0
VITEK®2 YST (bioMérieux)	25	14,3	84,0
Galerías API®			
API® 20 C AUX (bioMérieux)	7	4,0	100,0
API® CANDIDA (bioMérieux)	2	1,1	100,0
MicroScan (Beckman Coulter)	3	1,7	100,0
BD Phoenix™ yeast ID	1	0,6	100,0
RapID™ Yeast Plus (Remel, ThermoScientific™)	1	0,6	100,0
Total	175	100,0	97,2

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. tropicalis*, con algunos errores anecdóticos.

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

Sistema	Número	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. parapsilosis</i>	Otras Identificaciones
MALDI-TOF (Bruker)	96	95 (99,0)	0	1 (1,0) ^a
MALDI-TOF (VITEK® MS)	40	40 (100,0)	0	0
VITEK®2 YST (bioMérieux)	25	21 (84,0)	3 (12,0)	1 (4,0) ^b
API® 20 C AUX (bioMérieux)	7	7 (100,0)	0	0
MicroScan (Beckman)	3	3 (100,0)	0	0

^a*Candida dubliniensis* (1).

^b*Candida albicans* (1).

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIFUNGICOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 185 centros que realizaron una identificación de *C. tropicalis*. De ellos, 16 no realizaron el estudio de sensibilidad mientras que otro centro no introdujo ningún antifúngico en la aplicación, por lo que se analizaron un total de 168 antifungigramas.

La tendencia mayoritaria fue determinar la CMI mediante microdilución en caldo, utilizada por el 87,5% de los participantes que realizaron antifungigrama y, de forma exclusiva, por el 83,9% de los mismos. En segundo lugar, destacan las tiras de gradiente de concentración, que fueron efectuadas por el 13,7% de los centros con antifungigrama (el 10,1% como único método). El conjunto de los métodos informados se muestra en la tabla 6.

Tabla 6. Métodos empleados en el antifungigrama.

Método	Número	%
Microdilución	141	83,9
Tira de gradientes de concentración	17	10,1
Microdilución + tiras de gradiente de concentración	5	3,0
Disco-placa + tira de gradientes de concentración	1	0,6
Microdilución + disco-placa	1	0,6
No informa	3	1,8
Total	168	100,0

Respecto a las marcas empleadas para obtener las CMI o las concentraciones críticas, el sistema comercial más utilizado fue el panel Sensititre™ (52,8%), seguido de la tarjeta VITEK® 2 AST (32,1%) y de las tiras de Etest® (9,7%), ambas de bioMérieux. En 2 ocasiones (1,2%) no se especificó la marca comercial empleada. El conjunto de las marcas empleadas se detalla en la tabla 7.

Tabla 7. Marcas empleadas en el antifungigrama.

Marca	Número	%
Sensititre™ (Thermo Scientific)	87	52,8
VITEK® 2 AST (bioMérieux)	53	32,1
Etest® (bioMérieux)	16	9,7
MICRONAUT-AM (Merlin, Bruker)	4	2,4
MIC Test Strip (Liofilchem®)	3	1,8
No especifican ^a	2	1,2
Total	165	100,0

^aMétodos: microdilución (2).

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS DE LOS PARTICIPANTES

Se solicitó a los participantes que informaran de los criterios de puntos de corte que habían utilizado para la interpretación de su antifungigrama. Así, de los 168 laboratorios con la identificación de *C. tropicalis* que realizaron antifungigrama, 106 (63,1%) utilizaron los criterios del EUCAST, mientras que otros 52 centros (31,0%) se basaron en los criterios del CLSI. Hubo 6 centros (3,5%) que utilizaron los criterios CLSI para algunos antifúngicos y los del EUCAST para otros. Por último, 1 laboratorio (0,6%) se basó en la bibliografía, mientras que los 3 centros restantes (1,8%) no informaron de esta premisa. Estos datos se muestran en la tabla 8.

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

Criterio	Número	%
EUCAST	106	63,1
CLSI	52	31,0
CLSI + EUCAST	6	3,5
Bibliografía	1	0,6
No informa	3	1,8
Total	168	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 14 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	44	33 (75,0)	0	0	10 (22,7)	1 (2,3)
Anfotericina B	151	135 (89,4)	0	1 (0,7)	15 (9,9)	0
Anidulafungina	106	85 (80,2)	1 (0,9)	18 (17,0)	2 (1,9)	0
Caspofungina	133	104 (78,2)	2 (1,5)	6 (4,5)	19 (14,3)	2 (1,5)
Fluconazol	164	130 (79,3)	23 (14,0)	9 (5,5)	2 (1,2)	0
Isavuconazol	32	9 (28,1)	0	0	20 (62,5)	3 (9,4)
Itraconazol	79	56 (70,9)	3 (3,8)	12 (15,2)	8 (10,1)	0
Micafungina	127	103 (81,1)	0	2 (1,6)	14 (11,0)	8 (6,3)
Posaconazol	74	40 (54,1)	1 (1,3)	17 (23,0)	16 (21,6)	0
Voriconazol	162	150 (92,6)	5 (3,1)	5 (3,1)	2 (1,2)	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), SDD (Sensible dosis dependiente).

De forma mayoritaria, los participantes mostraron unos resultados concordantes con el valor asignado para la 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 192 centros que emitieron un resultado evaluable: 180 (93,8%) participantes comentan no utilizarlo, 8 (4,1%) afirman haberlo usado y los 4 restantes (2,1%) lo usaron parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

El principal comentario (10 centros) se refería al aislamiento de escasas colonias de *Candida glabrata*, junto con *C. tropicalis*. Cuatro centros realizaron recomendaciones terapéuticas, principalmente el tratamiento con fluconazol.

Otros cuatro centros especificaron que EUCAST no había establecido puntos de corte para algunos antifúngicos en el caso de *C. tropicalis*.

Tres centros señalaron la observación de efecto *trailing* en la lectura del antifungigrama para los azoles. Por último, dos centros señalaron una discordancia en los resultados de sensibilidad obtenidos con microdilución y mediante tiras de gradiente de concentración.

Madrid, 13 de septiembre de 2023




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.

M-1/23

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.