

En este control se remitió a los participantes un cultivo de una cepa identificada por el laboratorio que actuó de referencia como *Candida krusei*. Había sido aislada del hemocultivo de un paciente que presentaba en ese momento un cuadro de escalofríos, fiebre de 39 °C e inestabilidad hemodinámica. El enfermo había sido diagnosticado de leucemia linfoblástica aguda y estaba en tratamiento de inducción con quimioterapia. Se le había administrado, como profilaxis antiinfecciosa, ciprofloxacino, fluconazol y aerosoles con anfotericina B.

El objetivo prioritario de este control radicaba en conocer la capacidad de los laboratorios para identificar una especie de levadura distinta de *Candida albicans*, y poner a prueba los diversos sistemas comerciales de identificación, cada vez más frecuentes en los laboratorios de Microbiología, comparándolos con los métodos convencionales. Era también fundamental conocer la disponibilidad de los centros para realizar estudios de sensibilidad a los antifúngicos. Por último, tratándose de una cepa de *C. krusei*, otro de los objetivos perseguidos fue sondear la capacidad de interpretación de las pruebas de sensibilidad a los derivados azólicos, así como los comentarios y sugerencias que, a este respecto, se hicieran por parte de los microbiólogos clínicos. Este control se envió a 178 laboratorios.

## ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN

Se recibió una hoja de respuesta de 150 centros, lo que supone un porcentaje de participación real del 84,2%. Todos llegaron a algún tipo de identificación. De los 150 participantes que responden, 108 (72%) identifican la cepa como *C. krusei*, coincidiendo con el laboratorio de referencia, lo que supone un porcentaje de coincidencia sólo razonable. El resto, hasta un total de 42, la identifican de forma diversa, tal como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Resultados de identificación de los participantes.

Identificación	Número	%
<i>Candida krusei</i>	108	72,0
Género <i>Candida</i>	12	8,0
<i>Candida inconspicua</i>	10	6,7
Género <i>Geotrichum</i>	7	4,7
<i>Blastoschizomyces</i>	2	1,3
Levaduras, no especificadas	2	1,3
<i>Candida glabrata</i>	1	0,7
<i>Candida lipolytica</i>	1	0,7
<i>Candida tropicalis</i>	1	0,7
<i>Hansenula polymorpha</i>	1	0,7
<i>Torulopsis inconspicua</i>	1	0,7
<i>Trichophyton capitatum</i>	1	0,7
<i>Trichosporon beigelli</i>	1	0,7
<i>Trichosporon capitatum</i>	1	0,7
<i>Yarrowia lipolytica</i>	1	0,7

Total	150	100,0
-------	-----	-------

Hay siete laboratorios (4,6%) que no indican las pruebas de identificación que realizaron. Los métodos más utilizados fueron los comerciales. Pocos centros utilizaron la prueba de la filamentación precoz o las pruebas bioquímicas no comerciales. Los métodos más usados se recogen en la tabla 2.

**Tabla 2. Métodos comerciales usados para la identificación.**

Método	Número	%
API 20C AUX (bioMérieux)	29	20,3
API ID 32C (bioMérieux)	25	17,5
API (bioMérieux) <sup>a</sup>	23	16,1
Vitek (bioMérieux)	15	10,5
Microscan (Dade)	12	8,4
Auxonograma	8	5,6
Filamentación	8	5,6
Chromagar (BBL)	7	4,9
Auxacolor (Pasteur)	6	4,2
Filament. + Zimograma + Auxonograma	5	3,5
Examen microscópico	4	2,8
Candifast (Oxoid)	3	2,1
Pasco (Soria Melguizo)	1	0,7
Rapid ID (Izasa)	1	0,7
Fungiscreen	1	0,7
Total <sup>b</sup>	143	100,0

<sup>a</sup>No especifican si se trata del API 20C AUX o ID 32C

<sup>b</sup>Cinco laboratorios utilizan dos métodos a la vez

Todos los laboratorios que usaron el sistema ID 32C identificaron la levadura como *C. krusei*. Aquéllos que usaron el API 20C AUX presentaron mayor variabilidad; 16 centros identificaron la levadura como *C. krusei* y los restantes como *Candida inconspicua*, *Candida glabrata*, *Candida lipolytica*, y otros dos que sólo llegan a la identificación de género *Candida*, respectivamente. Por lo tanto, parece más aconsejable el uso de la galería que estudia un mayor número de pruebas bioquímicas, aunque cabe pensar que algunas identificaciones erróneas pudieran ser atribuibles a diferencias en el tiempo de incubación, aspecto que no puede ser analizado a partir de la información contenida en las respuestas. El sistema Vitek permitió la identificación de la levadura en todos los casos, menos en uno que lo informa como *Yarrowia lipolytica*. El sistema Microscan la identificó como *C. krusei* en 9 casos, y en los tres restantes como perteneciente al género *Candida*, *Hansenula lipolytica* y género *Geotrichum*. Los centros que sólo utilizaron la filamentación informaron acertadamente como género *Candida* y los que usaron el

examen directo como levaduras no especificadas, género *Candida*, *Geotrichum* y *T. capitatum*. Los que utilizaron el medio Chromagar como única prueba de identificación informaron como *C. krusei*. Llama por tanto la atención, el porcentaje no despreciable de identificaciones erróneas a que pueden conducir los sistemas comerciales, que deberían ser sometidos al buen juicio profesional del microbiólogo.

## ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIFÚNGICOS

Los resultados de la sensibilidad a los antifúngicos, obtenidos por el laboratorio que actuó como centro de referencia, se muestran en la tabla 3.

**Tabla 3. Resultados obtenidos por el centro de referencia.**

Antifúngico	CMI ( $\mu$ g/ml)	Interpretación <sup>a</sup>
Anfotericina B	0,5	S
Fluconazol	32	R <sup>b</sup>
Itraconazol	0,25	SDD
5-fluorocitosina	8	I

<sup>a</sup>S: sensible; I: Intermedio; SDD: Sensible Dependiendo de la Dosis

<sup>b</sup>Según los puntos de corte, sería SDD (ver a continuación)

El laboratorio de referencia hace hincapié en la **resistencia intrínseca al fluconazol que presentan las cepas de *C. krusei*, no teniéndose en cuenta los puntos de corte NCCLS** para dicha levadura. Asimismo, el laboratorio de referencia no informa la sensibilidad al ketoconazol ni al miconazol, pues carecen de justificación clínica en el caso que nos ocupa (infección sistémica). La interpretación se ha hecho siguiendo los criterios del NCCLS, Documento M-27A.

De los 150 laboratorios que envían respuesta, 89 (59,3%) no realizan estudio de sensibilidad. Los restantes (40,7%) utilizan el método disco-placa en 12 centros (19,6%) y el estudio de las CMI en 49, lo que supone un 80,3%. En los casos en los que sólo se informan resultados cualitativos, se utilizó el sistema comercial Pasteur en cinco centros, Rosco (Izasa) en cuatro centros, Candifast (Oxoid) en dos, y Pasco (Soria Melguizo) en un laboratorio. La tabla 4 resume la utilización de los sistemas que aportan datos cuantitativos.

**Tabla 4. Utilización de los sistemas que aportan la CMI.**

Marca	Número	%
Sensititre (Izasa)	17	34,7
Fungitest (Pasteur)	16	32,6
ATB-Fungus (bioMérieux)	8	16,3
E-Test (AB-Biodisk)	6	12,2
Preparación manual	2	4,1
Total	49	100,0

La tabla 5 resume los resultados cualitativos de la sensibilidad a los antifúngicos, con independencia del método utilizado (disco-placa o interpretación de las CMI). Se contabilizan en la tabla todos los resultados de sensibilidad aportados por los laboratorios participantes, no representando esta lista de antifúngicos recomendación técnica alguna por parte del Programa de Control de Calidad ni del laboratorio que actuó como centro de referencia.

**Tabla 5. Resultados cualitativos de la sensibilidad a los antifúngicos.**

Antifúngico	Informan (número)		Número (% sobre respuestas)				
			Sensible Intermedio Resistente				
Anfotericina B	64	55	(85,9)	3	(4,7)	6	(9,4)
5-fluorocitosina	59	17	(28,8)	27	(45,8)	15	(25,4)
Fluconazol	59	7	(11,9)	21	(35,6)	31	(52,5)
Ketoconazol	53	29	(54,7)	19	(35,9)	5	(9,4)
Itraconazol	48	17	(35,4)	18	(37,5)	13	(27,1)
Miconazol	32	10	(31,3)	19	(59,4)	3	(9,3)
Econazol	5	2	-	1	-	2	-
Clotrimazol	4	4	-	-	-	-	-
Nistatina	6	4	-	2	-	-	-

**Resulta especialmente significativo el 11,9% de laboratorios que consideran la cepa "Sensible" al fluconazol y el 35,6% "Intermedio", cuando la especie *C. krusei* presenta resistencia intrínseca a estos compuestos.** Hacemos constar también que la nomenclatura "Intermedio", aunque utilizada por algunos centros, no está avalada por el Documento M-27A del NCCLS para el fluconazol, el itraconazol y la anfotericina B, siendo reconocida, en su lugar, la categoría de SDD (Sensible Dependiendo de la Dosis).

Existe una gran variabilidad cuando analizamos los resultados de la sensibilidad para cada antifúngico en particular, que se hace más patente si correlacionamos la CMI obtenida con la categoría cualitativa (Sensible, Resistente, etc.) a la que adscriben el resultado, tal como se aprecia en las Tabla 6-11.

### Anfotericina B

Los resultados de sensibilidad cuantitativa y su interpretación se resumen en la tabla siguiente:

**Tabla 6. Distribución de las CMI informadas para la anfotericina B.**

CMI ( $\mu$ g/ml)	Número de centros que informan		
	Sensible	Intermedio <sup>a</sup>	Resistente
0,06	1	-	-
0,125	3	-	-
0,25	9	-	-
0,5	9	-	-
1	12	1	-
2	2	1	1
4	1	-	-
8	-	1	-

16	-	-	3
----	---	---	---

<sup>a</sup>No existe dicha categoría en el documento M-27A del NCCLS

El valor modal para los participantes fue de 1  $\mu$  g/ml y el informado por el centro de referencia de 0,5  $\mu$  g/ml, siendo el aislamiento considerado como Sensible. Llama la atención que algunos centros lo informen como Intermedio cuando no existe dicha categoría en el documento NCCLS para la anfotericina B.

5-fluorocitosina

**Tabla 7. Distribución de las CMI informadas para la 5-fluorocitosina.**

CMI ( $\mu$ g/ml)	Número de centros que informan		
	Sensible	Intermedio	Resistente
2	2	-	-
>2	-	1	-
>2 - <32	-	4	-
4	2	2	-
8	2	9	-
16	-	3	1
32	-	4	2
>32	1	-	4
64	-	-	1

El valor modal es de 8  $\mu$  g/ml, coincidiendo con el obtenido por el centro de referencia. Este valor es considerado como "Intermedio". El NCCLS define dicha categoría para aislamientos con una CMI entre 8 y 16  $\mu$  g/ml y, por lo tanto, si seguimos los criterios de ese comité, hay 15 centros que lo califican erróneamente.

### Fluconazol

La sensibilidad a este compuesto constituía uno de los aspectos más importantes del presente control.

**Tabla 8. Distribución de las CMI informadas para el fluconazol.**

CMI ( $\mu$ g/ml)	Número de centros que informan		
	Sensibilidad disminuida <sup>a</sup>	Intermedio <sup>b</sup>	Resistente
4	-	-	1
8	-	1	-
> 8	-	-	1
>8 - <64	-	4	1
16	1	3	1
32	3	4	4

64	-	4	4
> 64	-	-	1
128	-	-	1
> 128	-	-	1
256	-	-	2
> 256	-	-	1

<sup>a</sup>Correspondería a la categoría SDD del documento NCCLS 27-A

<sup>b</sup>No existe dicha categoría en el documento NCCLS 27-A, sino SDD

El valor modal fue de 32  $\mu$  g/ml, coincidiendo con el informado por el laboratorio de referencia, pudiendo ser catalogado como SDD si no atendiésemos a la identificación de la levadura. Sin embargo, volvemos a insistir que el NCCLS (M-27A; 1997) comenta que estos criterios no deben ser aplicados a *C. krusei*, ya que es considerada como intrínsecamente resistente al fluconazol.

Los cuatro centros que informan como "Sensible", lo hacen especificando "Sensibilidad disminuida". Sólo dos laboratorios (que no determinan la CMI), consideran la cepa sensible al fluconazol, y otro informa "Sensibilidad", seguida de un signo de interrogación.

### Itraconazol

**Tabla 9. Distribución de las CMI informadas para el itraconazol.**

CMI ( $\mu$ g/ml)	Número de centros que informan		
	Sensibilidad disminuida	Intermedio <sup>a</sup>	Resistente
<0,06	2	-	-
0,125	2	-	-
0,25	3	1	-
0,5	3	1	-
>0,5	-	-	1
>0,5-<4	-	4	-
1	-	-	5
1,5	-	-	1
2	-	2	-
4	-	3	-
8	-	1	-

<sup>a</sup>No existe dicha categoría en el documento NCCLS 27-A, sino SDD

El valor modal está comprendido en el intervalo entre 0,25 y 1  $\mu$  g/ml. El NCCLS (M27-A; 1997) considera en la categoría de "Sensible" a los aislamientos con una CMI  $\leq$  0,125  $\mu$  g/ml, SDD cuando la CMI está entre 0,25 y 0,5  $\mu$  g/ml, y "Resistente" si la CMI es  $\geq$  1  $\mu$  g/ml, por lo que la mayoría de los centros no siguieron dichos criterios para dar su información. Además, según el NCCLS, estos criterios son válidos para las infecciones mucocutáneas. Su extrapolación a las infecciones sistémicas, como la

que nos ocupa, está por definir.

## Miconazol y ketoconazol

Tabla 10. Distribución de las CMI informadas para el miconazol

CMI ( $\mu$ g/ml)	Número de centros que informan		
	Sensible	Intermedio	Resistente
>0,5 - <4	-	1	-
>0,5 - <8	-	1	-
>0,5 - 8	-	1	-
4	-	2	-
8	-	4	-
16	-	-	1

Todos los informes que señalan "Sensibilidad" al miconazol han sido aportados de forma cualitativa, sin datos de la CMI.

Tabla 11. Distribución de las CMI informadas para el ketoconazol.

CMI ( $\mu$ g/ml)	Número de centros que informan		
	Sensible	Intermedio	Resistente
<0,125	1	-	-
0,25	3	-	-
0,5	5	-	-
>0,5 - <4	-	2	-
1	1	5	1
2	1	1	1
4	-	5	-
8	-	-	-
16	1	-	-
24	-	-	1

El laboratorio de referencia no ha informado la sensibilidad a estos dos antifúngicos debido a que, aunque están disponibles en algunos equipos comerciales, no tienen justificación clínica en este caso (infección sistémica).

## UTILIZACIÓN DE LABORATORIOS EXTERNOS DE REFERENCIA Y COMENTARIOS

De los 150 centros que envían hoja de respuesta, sólo cuatro indican que remiten el control a un laboratorio externo de referencia; tres de ellos contestan que no han recibido el resultado del antifungigrama e identifican la cepa como Género *Candida*, *C. krusei* (API) y como levadura no especificada. El otro informa *C. krusei* y los resultados del antifungigrama mediante un método de macrodilución.

Por lo que se refiere a comentarios, sólo cuatro centros comentan explícitamente la resistencia intrínseca de *C. krusei* al

fluconazol. Unicamente nueve laboratorios señalan que, en este caso, el antifúngico de elección para el tratamiento sería la anfotericina B.

A modo de resumen, hay que volver a señalar la amplia variabilidad de los resultados de las pruebas de sensibilidad para todos los antifúngicos, así como la dispersión en los criterios de interpretación. Se puede concluir que es muy difícil la valoración de los métodos comerciales existentes en la actualidad, pero que es ineludible someterlos al buen juicio del profesional microbiólogo. También, que existe poca difusión, en cuanto a los antifúngicos se refiere, de los documentos aprobados por el NCCLS. Queda abierta aquí la discusión sobre la conveniencia de que las pruebas de sensibilidad sean realizadas por un centro externo de referencia. Los resultados obtenidos en este control indican la necesidad de someter a las pruebas de sensibilidad a un estricto control de calidad.

En cuanto a la valoración de los sistemas de identificación comerciales, aun siendo los resultados aceptables en términos generales, no por ello hay que dejar de señalar el porcentaje notable de falsas identificaciones. Esta situación no se hubiera producido de haber complementado el método comercial con algunas pruebas convencionales sencillas (morfología, prueba de filamentación, etc.).