

CONTROL DE CALIDAD DE MICOLOGÍA (M-2/04)

En el presente control se envió a los participantes un producto liofilizado con una única cepa identificada por el laboratorio de referencia como *Candida dubliniensis*. Se acompañaba de un supuesto clínico de un varón de 63 años, portador desde hacía dos meses de un catéter de Hickman para la administración de tratamiento quimioterápico, que acudió al servicio de Urgencias por presentar un cuadro de fiebre de hasta 38°C, escalofríos y empeoramiento de su estado general en las últimas 24 horas. Se decidió ingresar al paciente en el servicio de Oncología, desde donde se remitieron al laboratorio de Microbiología muestras de orina, heces, esputo y sangre para cultivo microbiológico. Se procedió a la retirada del catéter y a pautar un tratamiento con antibioterapia de amplio espectro, sin que se produjera una mejoría clínica del paciente. A las 48 h de incubación, creció, a partir de los frascos de hemocultivos, el hongo objeto del control. Se instauró un tratamiento antifúngico con el que se consiguió la mejoría clínica del paciente.

Se solicitó a los participantes la identificación de la cepa remitida y la realización del estudio de sensibilidad con los antifúngicos pertinentes, así como la formulación de aquellos comentarios libres que se considerasen oportunos.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN MICOLÓGICA

La cepa problema fue enviada a 233 laboratorios de los que 211 remitieron la hoja de respuesta, todas ellas evaluables. El porcentaje de participación fue del 90,6%, superior al de otros controles. Como se puede observar en la tabla 1, todos los participantes, excepto uno, identificaron adecuadamente el género. Los problemas se presentaron en la identificación de especie, como cabría esperar, dada la dificultad para diferenciar la cepa remitida de *Candida albicans*. Así, el 43,1% informó *C. dubliniensis* y el 53,1% *C. albicans*. Las otras identificaciones informadas fueron género *Candida* en 4 ocasiones (1,9%) y, en una ocasión (0,5%) se informó *Candida tropicalis*, *Candida lusitanae*, *Candida parapsilosis* y *Prototheca wickerhamii*, respectivamente. El Programa de Control de Calidad sólo consideró válida la identificación de especie *Candida dubliniensis*. Por otro lado, se obtiene el crecimiento de un segundo aislado en tan sólo una ocasión en la que se informan *C. dubliniensis* y *C. parapsilosis*. Por parte del control fueron revisados todos los lotes de liofilos antes de realizar el envío, no encontrándose contaminación en ninguno de ellos.

Tabla 1. Resultados de la identificación micológica.

Identificación	Número	%
<i>Candida albicans</i>	112	53,1
<i>Candida dubliniensis</i>	91	43,1
Género <i>Candida</i>	4	1,9
<i>Candida parapsilosis</i>	1	0,5
<i>Candida lusitanae</i>	1	0,5
<i>Candida tropicalis</i>	1	0,5
<i>Prototheca wickerhamii</i>	1	0,5
Total	211	100,0

En la identificación micológica, la gran mayoría de los participantes no informa de la estructura fúngica observada (92,9%), el 3,8% informa levaduras y el 3,3% restante clamidosporas, observada tras someter el cultivo a las condiciones adecuadas. En cuanto a los métodos empleados en la identificación, las pruebas bioquímicas, en su mayoría sistemas comerciales (API, Microscan, Vitek, etc.), fueron utilizadas por 165 participantes (78,2%) y, de forma exclusiva, por el 50,7%. Usaron métodos manuales (cultivo, prueba de filamentación y microscopía) 99 laboratorios (46,9%), 7,1% de ellos informa exclusivamente el cultivo y el 4,3% el test de filamentación (tabla 2).

Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.

Métodos	Número	%
Pruebas bioquímicas	107	50,7
Cultivo + pruebas bioquímicas	29	13,7
Pruebas bioquímicas + filamentación	20	9,5
Cultivo	15	7,1
Cultivo + filamentación	14	6,6
Cultivo + filamentación + pruebas bioquímicas	9	4,3
Test de filamentación	9	4,3
No informa del método empleado	5	2,4
Microscopía	1	0,5
Técnicas manuales sin especificar	1	0,5
Cultivo + microscopía	1	0,5
Total	211	100,0

En la tabla 3 se especifican las marcas y sistemas comerciales utilizados para la identificación. En alguna ocasión los participantes informaron del uso de más de un sistema, por lo que en estos casos se analiza más de una marca por laboratorio. Las diversas galerías bioquímicas API (API no especificado, API 20C auxonograma y API Id 32C) fueron, en su conjunto, el sistema más empleado (54,1%). Le siguieron en frecuencia los sistemas Vitek YBC (bioMérieux) con un 9,9%, las placas de cultivo cromogénicas (*Candida* Id®, Chromagar® *Candida* y otras de marca no

especificada) usadas por el 8,8%, el sistema Vitek 2 (bioMérieux) por el 8,3%, el sistema Auxacolor (BioRad) por el 6,6% y el sistema Microscan (Dade-Behring) usado por el 3,9% de los participantes. Los sistemas Candifast (Oxoid), Rapid Yeast Plus System (Remel) y el auxonograma manual fueron utilizados por tres participantes (1,7%), respectivamente.

El presente control puso de manifiesto las limitaciones de los sistemas comerciales para identificar la especie *C. dubliniensis*. En términos generales, las identificaciones erróneas (53,6%) superaron a las correctas. Los mejores resultados se obtuvieron con el API Id 32C (73,7% de aciertos), Vitek2 (86,7%) y Auxacolor-BioRad (66,7%), si bien en estos dos últimos hay que tener en cuenta el reducido número de participantes que los utilizaron. Por el contrario, todos los que emplearon placas cromogénicas (de diferentes marcas) o el sistema Microscan (Dade-Behring) identificaron incorrectamente la cepa, aunque de nuevo hay que tener en consideración el bajo número de usuarios (tabla 3).

Tabla 3. Sistemas comerciales utilizados en la identificación y aislados informados.

Método comercial	Número (%)	Identificación (% sobre total de cada fila)			% erróneas
		<i>C. dubliniensis</i>	<i>C. albicans</i>	Otras	
Galerías API (bioMérieux)	98 (54,1)	56 (57,1%)	39 (39,8%)	3 (3,1%)	42,9
API 20C auxonograma	54 (29,8)	24 (44,4%)	27 (50,0%)	3 (5,6%)	55,6
API Id 32C	38 (21,0)	28 (73,7%)	10 (26,3%)	–	26,3
API no especificado	6 (3,3)	4 (–)	2 (–)	–	–
Vitek YBC (bioMérieux)	18 (9,9)	4 (22,2%)	14 (77,8%)	–	77,8
Placas cromogénicas	16 (8,8)	–	15 (93,7%)	1 (6,2%)	100,0
Vitek 2 (bioMérieux)	15 (8,3)	13 (86,7%)	2 (13,3%)	–	13,3
Auxacolor (BioRad)	12 (6,6)	8 (66,7%)	3 (25,0%)	1 (8,3%)	33,3
Microscan (Dade-Behring)	7 (3,9)	–	6 (85,7%)	1 (14,3%)	100,0
Candifast (Oxoid)	3 (1,7)	–	3 (–)	–	–
Rapid Yeast Plus (Remel)	3 (1,7)	–	3 (–)	–	–
Auxonograma manual	3 (1,7)	1 (–)	2 (–)	–	–
Otros	1 (0,5)	–	1 (–)	–	–
No informan	5 (2,8)	2 (–)	3 (–)	–	–
Total	181 (100,0)	84 (46,4%)	91 (50,3%)	6 (3,3%)	53,6

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIFÚNGICOS

GENERALIDADES

Un total de 125 participantes (59,2%) remitió datos de sensibilidad, siendo motivo de análisis todas estas respuestas. Los restantes 86 laboratorios no aportaron resultados, aunque algunos de ellos indicaron que remitirían la cepa a un centro de referencia. Como puede observarse, la tendencia mayoritaria fue determinar la CMI mediante microdilución en caldo y concentraciones críticas, usado en total por 100 laboratorios (80,0%). La microdilución en caldo se usó de forma exclusiva en el 47,2% de las ocasiones y las concentraciones críticas en el 30,4%. La determinación de la CMI mediante E-test® fue realizada por 11 participantes (lo que supone un 8,8% del total y como método único por el 7,2%). El método de disco-placa se utilizó en 10,4% de los laboratorios y de forma exclusiva en el 9,6% (tabla 4).

Tabla 4. Métodos empleados en el antifungigrama.

Método	Número	%
CMI ^a	59	47,2
CMI ^a + E-test®	2	1,6
Concentraciones críticas	38	30,4
Disco-placa	12	9,6
Disco-placa + CMI ^a	1	0,8
E-test®	9	7,2
No especificado	4	3,2
Total	125	100,0

^aCMI por microdilución en caldo.

Tabla 5. Marcas empleadas en el antifungigrama.

Marca	Número	%
Sensititre (Izasa)	57	57,0
Fungitest (BioRad)	18	18,0
ATB-fungus (bioMérieux)	16	16,0
Candifast (Oxoid)	3	3,0
Manual	2	2,0
No especifican	4	4,0
Total	100	100,0

Respecto a las marcas empleadas (tabla 5), de un total de 100 respuestas, el sistema comercial más utilizado fue Sensititre (57,0%), seguido de Fungitest (18,0%) y ATB-fungus (16,0%). Dos participantes utilizaron un método de dilución manual. Los resultados de sensibilidad antibiótica suministrados por el centro que actuó como laboratorio de referencia se especifican en la tabla 6 y la lista se incluye como término de comparación para los participantes, sin que suponga una recomendación de uso en el tratamiento de las infecciones por este hongo. El número de antifúngicos informados por los laboratorios se ajustó bastante a las necesidades terapéuticas y fue similar a la lista informada por el laboratorio de referencia (fluconazol, anfotericina B, itraconazol, 5-fluorocitosina, ketoconazol y voriconazol).

Tabla 6. Sensibilidad de la cepa según el laboratorio de referencia.

Antifúngico	CMI ^a	Interpretación
Anfotericina B	0,03	S
Fluconazol	< 0,125	S
Itraconazol	0,03	S
Ketoconazol	< 0,008	S
5-Fluorocitosina	< 0,03	S
Voriconazol	< 0,008	S

^aCMI expresada en µg/ml.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS

En la tabla 7 se resumen los resultados de las pruebas cualitativas de sensibilidad a los antifúngicos remitidos por los participantes. En total, se recibieron resultados correspondientes a 11 antifúngicos diferentes.

Tabla 7. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antifúngicos.

Antifúngico	Número	Interpretación ^a			
		No interpretado	Sensible	Intermedio	Resistente
Fluconazol	122	7 (5,7)	110 (90,2)	–	5 (4,1)
Anfotericina B	118	6 (5,1)	110 (93,2)	1 (0,8)	1 (0,8)
Itraconazol	111	8 (7,2)	97 (87,4)	1 (0,9)	5 (4,5)
5-fluorocitosina	102	8 (7,8)	93 (91,2)	1 (1,0)	–
Ketoconazol	76	8 (10,5)	66 (86,8)	1 (1,3)	1 (1,3)
Voriconazol	68	8 (11,8)	59 (86,8)	–	1 (1,5)
Miconazol	18	1 (5,6)	16 (88,9)	1 (5,6)	–
Econazol	6	–	5 (83,3)	–	1 (16,7)
Nistatina	5	–	4 (80,0)	–	1 (20,0)
Clotrimazol	3	–	3 (100,0)	–	–
Caspofungina	1	1 (100,0)	–	–	–

^aLos números entre paréntesis indican porcentajes sobre el total de ensayos para cada antifúngico.

Analizados los resultados de los participantes desde un punto de vista general, hay una notable concordancia con los aportados por el laboratorio de referencia. Así pues, cabe destacar la uniformidad de los resultados y de interpretación de las sensibilidades de todos los antifúngicos ensayados. Se debe resaltar que todos los participantes que no interpretan el resultado de CMI obtenido, informan valores que pertenecerían a la categoría de “Sensible”.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

En el presente control se analizaron 65 hojas de respuesta de participantes que efectuaban algún comentario, a veces varios, por lo que el número total fue de 79. Como siempre, algunos fueron muy extensos, lo que obligó a sintetizarlos por parte del Programa de Control de Calidad SEIMC, siempre tratando de no desvirtuar la idea que pretendían transmitir. Nuevamente, se recomienda hacerlos de forma precisa y escueta.

En la tabla 8 se resumen los comentarios técnico-microbiológicos. Como era de esperar, la mayor parte de ellos van dirigidos al intento de diferenciar entre *C. albicans* y *C. dubliniensis* y a la realización de las pruebas adecuadas para conseguirlo. Así, el 26,1% no obtiene crecimiento al incubar el cultivo a 42-45°C, por lo que informan la levadura remitida como *C. dubliniensis*; el 4,6% sí lo observa, de ahí que su identificación fue *C. albicans*. Uno de ellos señala que las colonias obtenidas en medios cromogénicos son indistinguibles para ambas especies, y otros dos comentan que la prueba de filamentación fue positiva para ambas levaduras. Otro comentario realizado frecuentemente por los participantes se refiere a la realización de las pruebas de sensibilidad y a sus resultados. De este modo, el 23,1% informa que remitiría la cepa a su laboratorio de referencia para la realización de dichas pruebas, el 3,1% realiza dicho estudio porque se trataba de un caso infección invasiva, un participante comenta que, en su opinión, no procedía la realización del antifungigrama y, en cuanto a los participantes que comentan los resultados obtenidos en este estudio, el 7,7% informa de la capacidad que presenta *C. dubliniensis* para desarrollar rápidamente resistencia a los azoles y, puesto que la cepa remitida era sensible a dicho grupo de antifúngicos, el 3,1% comenta que la cepa era más sensible de lo esperado.

Tabla 8. Comentarios técnico-microbiológicos efectuados por los participantes.

Comentario	Número	% ^a
No se obtiene crecimiento al incubar a 42-45°C	17	26,1
Hay crecimiento al incubar a 42-45°C	3	4,6
El test de filamentación resulta positivo	2	3,1
Produce tubos germinativos	1	1,5
Se observan clamidosporas en racimo	1	1,5
Se observan clamidosporas terminales en parejas y grupos	1	1,5
En la placa cromogénica obtenemos el mismo color que <i>C. albicans</i>	1	1,5
La cepa no asimila la xylosa	1	1,5
Con el sistema Auxacolor no obtenemos una identificación aceptable	1	1,5
Las galerías comerciales no identifican la cepa adecuadamente	1	1,5
El diagnóstico diferencial con <i>C. albicans</i> es difícil	1	1,5
Confirmación de la identificación en el laboratorio de referencia	1	1,5
En nuestro laboratorio sólo identificamos género <i>Candida</i>	1	1,5
Pendiente de confirmar la identificación mediante pruebas moleculares	1	1,5
Para el antifungigrama remitimos la cepa al laboratorio de referencia	15	23,1
<i>C. dubliniensis</i> desarrolla rápidamente resistencia a los azoles (fluconazol)	5	7,7
La cepa es más sensible de lo normal a los azoles	2	3,1
Se trata de una enfermedad invasiva, por lo que realizaríamos antifungigrama	2	3,1
No procede la realización de antifungigrama	1	1,5
No existen puntos de corte para el voriconazol	1	1,5
El ISC III recomienda informar R el voriconazol cuando la CMI es >1-2µg/ml	1	1,5
CMI anfotericina B limitada mediante métodos de microdilución en caldo	2	3,1
CMI de anfotericina B realizada en medio Antibiótico nº3 y no en RPMI	1	1,5
Total	63	96,9

^aSobre las 65 respuestas con comentarios.

La tabla 9 resume los comentarios clínico-terapéuticos remitidos por los distintos laboratorios. La mayoría se refieren al tratamiento antifúngico del paciente y, como en otras ocasiones, son menos numerosos que los de tipo técnico-microbiológico. Así, el comentario más frecuente (7,7%) es la recomendación como tratamiento de elección del fluconazol (en todas las ocasiones estos laboratorios identificaron *C. albicans*), mientras que en el 4,6% de las respuestas se recomienda la anfotericina B, y uno de éstos especifica que no se debía tratar al paciente con fluconazol debido a la capacidad de *C. dubliniensis* para desarrollar resistencia a los azoles, característica que justificaba el llegar al diagnóstico correcto de especie en el caso clínico que nos ocupaba.

Tabla 9. Comentarios clínicos y terapéuticos realizados por los participantes.

Comentario	Número	% ^a
Tratamiento de elección fluconazol	5	7,7
Tratamiento de elección anfotericina B	3	4,6
No se debe tratar al paciente con fluconazol por selección de resistencia	1	1,5
Se debe retirar el catéter al paciente	1	1,5
No retirar el catéter al paciente pues el tratamiento es efectivo	1	1,5
¿Se sembró el catéter?	1	1,5
Mantener el tratamiento hasta 2 semanas después del último hemocultivo positivo	1	1,5
Realizar hemocultivos de control después del tratamiento	1	1,5
¿Por dónde se extrajeron los hemocultivos?	1	1,5
Sólo informaríamos al clínico: voriconazol, anfotericina B y fluconazol	1	1,5
Total	16	24,6

^aSobre las 65 respuestas con comentarios.

UTILIZACIÓN DE LABORATORIO EXTERNO

Por lo que respecta a la necesidad de utilizar un laboratorio externo para la identificación de la cepa o para el estudio de la sensibilidad obtenemos los siguiente datos: 186 (88,1%) laboratorios dicen no utilizarlo, 10 (4,7%) no lo informan y 15 (7,1%) afirman haberlo utilizarlo, siete de ellos parcialmente. Cabe destacar que de los participantes que requieren laboratorio externo de forma parcial, el 87,5% informa la cepa remitida como *C. albicans*, posiblemente porque recurrieron a éste únicamente para la realización del estudio de sensibilidad.