

## CONTROL DE CALIDAD DE MICOLOGÍA (M-1/07)

En el presente control se envió a los participantes un producto liofilizado con una única cepa identificada por el laboratorio de referencia como *Candida kefyr*. Se acompañaba de la historia clínica un paciente de 78 años que, tras sufrir un accidente cerebrovascular, ingresó en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) por deterioro grave de su estado general, disminución del nivel de conciencia y necesidad de soporte ventilatorio. A los tres días de su estancia en la UCI, el paciente presentó picos febriles y empeoramiento de los parámetros respiratorios, con aumento de las secreciones. Se realizó un broncoaspirado y se remitieron las muestras a Microbiología para estudio bacteriológico y micológico. Al cabo de 48 h de incubación creció, a partir de las muestras respiratorias y con un recuento de 500.000 UFC/mL el hongo objeto de este control.

Se solicitó a los laboratorios participantes la **identificación** de la cepa remitida y la realización, si procedía, del estudio de sensibilidad, así como que formularan los **comentarios** que consideraran oportunos.

### ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN MICOLÓGICA

La cepa problema fue enviada a 242 laboratorios participantes, de los que 209 remitieron hoja de respuesta, todas ellas con resultados válidos, lo que supone un porcentaje de participación del 86,4%, inferior al de otros controles de micología.

Como se observa en la tabla 1, la mayoría de los participantes identificaron correctamente la especie (90,4%). Hubo 9 centros (4,3%) que se limitaron a aportar una aproximación genérica. En cuatro ocasiones, la cepa remitida fue identificada como *Candida pseudotropicalis* (1,9%). El resto de identificaciones se detallan en la tabla 1. El Programa de Control de Calidad sólo consideró válida la identificación de especie *C. kefyr*, tal y como aportó el laboratorio de referencia, el cual empleó una batería bioquímica comercial (API ID 32C de bioMérieux) para su identificación.

**Tabla 1. Resultados de la identificación micológica.**

Identificación	Número	%
<i>Candida kefyr</i>	189	90,4
Género <i>Candida</i>	9	4,3
<i>Candida pseudotropicalis</i>	4	1,9
<i>Candida krusei</i>	1	0,5
<i>Candida glabrata</i>	1	0,5
<i>Candida guilliermondii</i>	1	0,5
<i>Candida parapsilosis</i>	1	0,5
<i>Cryptococcus laurentii</i>	1	0,5
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1	0,5
Género <i>Kluyveromyces</i>	1	0,5
Total	209	100,0

Por lo que respecta a los métodos empleados en la identificación, las pruebas bioquímicas, en su mayoría sistemas comerciales (API, Vitek, Microscan, etc.) fueron las más utilizadas (190 participantes, el 90,9%), de los que 177 (84,7%) lo hicieron de forma exclusiva. Los restantes laboratorios combinaron dichas pruebas con métodos manuales (cultivo, filamentación, etc.), o con secuenciación. Usaron métodos manuales (cultivo en medios cromógenos y prueba de filamentación) 21 laboratorios (10,1%); de ellos, cinco (2,4%), informaron exclusivamente el cultivo y dos (1,0%) la prueba de filamentación. Todos estos datos quedan resumidos en la tabla 2.

**Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.**

Métodos	Número	%
Pruebas bioquímicas	177	84,7
Cultivo + pruebas bioquímicas	9	4,3
Cultivo	5	2,4
Pruebas bioquímicas + filamentación	1	0,5
Cultivo + filamentación	2	1,0
Cultivo + filamentación + pruebas bioquímicas	1	0,5
Prueba de filamentación	2	1,0
Pruebas bioquímicas + secuenciación	2	1,0
Técnicas manuales sin especificar	1	0,5
Secuenciación	1	0,5
No informa del método empleado	8	3,8
Total	209	100,0

En la tabla 3 se especifican las marcas y sistemas comerciales empleados para la identificación. Puesto que algunos centros utilizaron más de un sistema comercial, se analiza un total de 220 marcas comerciales. Las distintas galerías bioquímicas API (API no especificado, API 20C auxonograma y API Id 32C) fueron, en su conjunto, el sistema mayoritariamente empleado (53,2%), aportando un porcentaje muy elevado de identificaciones correctas, sobre todo con el equipo API Id 32C, que identificó la cepa correctamente en el 98,0% de las ocasiones. Le siguieron en frecuencia

los sistemas comerciales automatizados de bioMérieux (Vitek YBC y Vitek 2) con un 21,8%. También, en este caso, el índice de aciertos fue elevado (97,9%). Otros métodos utilizados fueron, el sistema Auxacolor de BioRad, las placas de cultivo cromogénicas (*Candida* Id®, Chromagar® *Candida*, etc.) y el sistema Microscan de Dade-Behring usados por el 5,9%, 6,4% y 4,1% respectivamente. La mayoría de las identificaciones discrepantes se informaron mediante métodos manuales o medios de cultivo cromogénicos. El resto de marcas se especifican en la tabla 3.

**Tabla 3. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.**

Método comercial	Número (%)
Galerías API (bioMérieux)	117 (53,2)
API 20C auxonograma	60 (27,3)
API Id 32C	49 (22,3)
API no especificado	8 (3,6)
Vitek (bioMérieux)	48 (21,8)
Vitek YBC (bioMérieux)	20 (9,1)
Vitek 2 (bioMérieux)	28 (12,7)
Auxacolor (BioRad)	13 (5,9)
Placas cromogénicas	14 (6,4)
Microscan (Dade-Behring)	9 (4,1)
Candifast (Oxoid)	2 (0,9)
Rapid Yeast Plus (Remel)	4 (1,8)
MicroSeq	1 (0,4)
No informan	12 (5,4)
Total	220 (100,0)

## RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIFÚNGICOS

### GENERALIDADES

De los 209 centros que remitieron hoja de respuesta con resultados valorables, fueron 125 participantes (59,8%) los que realizaron estudio de sensibilidad. Como puede observarse en la tabla 4, la tendencia mayoritaria fue determinar la CMI mediante un método de microdilución en caldo, que se usó de forma exclusiva en el 46,4% de los casos. En segundo lugar, destaca el método de concentraciones críticas, empleado por el 28,8% de los participantes. La determinación de la CMI mediante E-test® fue realizada por 16 centros, 13 de ellos la usaron como única técnica. El método de disco-placa se utilizó en 8,0% de los casos (tabla 4).

**Tabla 4. Métodos empleados en el antifungigrama.**

Método	Número	%
CMI <sup>a</sup>	58	46,4
Concentraciones críticas	36	28,8
E-test®	13	10,4
Disco-placa	8	6,4
CMI <sup>a</sup> + E-test®	2	1,6
Disco-placa + E-test®	1	0,8
CMI + Disco-placa	1	0,8
No especificado	6	4,8
Total	125	100,0

<sup>a</sup>CMI por microdilución en caldo.

Respecto a las marcas empleadas, el sistema comercial más utilizado fue Sensititre® (56,7%), seguido de ATB-Fungus de bioMérieux (23,7%) y Fungitest® (Bio-Rad) (14,4%). En tres ocasiones no se especificó la marca comercial empleada. Todos los datos quedan resumidos en la tabla 5.

**Tabla 5. Marcas empleadas en el antifungigrama.**

Marca	Número	%
Sensititre® (Izasa)	55	56,7
ATB-fungus (bioMérieux)	23	23,7
Fungitest® (Bio-Rad)	14	14,4
Candifast® (Oxoid)	1	1,0
Eucast-AFST 2003	1	1,0
No especifican	3	3,1
Total	97	100,0

El laboratorio de referencia empleó el método de dilución en caldo de Sensititre® para la determinación de la CMI, basándose para su interpretación en los criterios CLSI para género *Candida* recogidos en el documento M-27A y en datos referidos en la bibliografía y en la experiencia. Los resultados obtenidos por el centro que actuó como laboratorio de referencia se especifican en la tabla 6. 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.

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

Antifúngico	CMI <sup>a</sup>	Interpretación
Anfotericina B	0,125	S
Fluconazol	<=0,125	S
Itraconazol	0,016	S
5-Fluorocitosina	<=0,003	S
Caspofungina	0,03	S
Voriconazol	<=0,008	S

<sup>a</sup>CMI 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, número superior a la lista proporcionada por el laboratorio de referencia.

**Tabla 7. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antifúngicos.**

Antifúngico	Número	Interpretación <sup>a</sup>				
		Sensible	Intermedio	Resistente	SDD <sup>b</sup>	No interpreta
Anfotericina B	118	105 (89,0)	2 (1,7)	2 (1,7)	?	9 (7,6)
Fluconazol	122	116 (95,1)	?	2 (1,6)	?	4 (3,3)
Itraconazol	108	95 (88,0)	4 (3,7)	2 (1,8)	3 (2,8)	4 (3,7)
5-fluorocitosina	101	97 (96,0)	?	?	?	4 (4,0)
Ketoconazol	62	55 (88,7)	?	?	?	7 (11,3)
Voriconazol	87	79 (90,8)	?	1 (1,1)	?	7 (8,0)
Miconazol	15	14 (93,3)	1 (6,7)	?	?	?
Econazol	3	3 (100,0)	?	?	?	?
Posaconazol	17	10 (58,8)	?	?	?	7 (41,2)
Nistatina	3	3 (100,0)	?	?	?	?
Clotrimazol	2	2 (100,0)	?	?	?	?
Caspofungina	45	31 (68,9)	?	?	?	14 (31,1)

<sup>a</sup>Los números entre paréntesis indican porcentajes sobre el total de ensayos para cada antifúngico.

<sup>b</sup>SDD: Sensible Dependiente de la Dosis.

Analizados los resultados de los participantes desde un punto de vista general, hay muy buena concordancia con los aportados por el laboratorio de referencia. Las interpretaciones discordantes encontradas pueden considerarse como resultados excepcionales que se producen en todo control.

#### 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: 187 (89,5%) centros comentan no utilizarlo, 17 (8,1%) afirman haberlo usado, ocho de ellos parcialmente (3,8%). Fueron cinco los centros que no informaron acerca de este dato (2,4%).

#### COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Entre los comentarios más habituales de los participantes cabe destacar el que hace referencia a la dificultad de diferenciación entre una colonización y una auténtica infección pulmonar causada por la levadura. Otros hacen el comentario de que esta especie es poco frecuente. Por otra parte, bastantes centros comentan que no realizan antifungigrama o que normalmente lo remiten a un laboratorio de referencia. Son también bastantes los centros que hacen mención a la dificultad de interpretación de las CMI obtenidas, destacando que no existen puntos de corte para caspofungina, posaconazol, voriconazol y anfotericina B, entre otros. Finalmente, como tratamiento recomiendan fluconazol o voriconazol.