

CONTROL DE CALIDAD DE MICOLOGÍA (M-2/08)

En el presente control se envió a los participantes una levadura que fue identificada por el laboratorio de referencia como *Cryptococcus neoformans*. La historia clínica acompañante correspondía a un paciente varón de 39 años de edad, diagnosticado de linfoma de Hodgkin y en tratamiento quimioterápico. En el curso de dicho tratamiento, acudió a urgencias médicas por presentar un cuadro febril de dos días de evolución, que en las últimas horas se acompañó de un síndrome meníngeo y que, finalmente, determinó su ingreso. Con fines diagnósticos, tras realizarse la extracción de 3 hemocultivos, se realizó una punción lumbar, remitiéndose las muestras al Servicio de Microbiología para estudio bacteriológico, micobacteriológico y de hongos. La tinción de Gram del LCR mostró microorganismos y, a las 48 h de incubación, se observó el crecimiento de unas colonias de aspecto mucoso, convexas y de coloración blanquecina, cuya identificación reveló el hongo que es objeto de este control.

Se solicitó a los laboratorios participantes la **identificación** del hongo/s implicado/s en este cuadro clínico, así como que formularan los **comentarios** que consideraran oportunos.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN MICOLÓGICA

La cepa problema fue enviada a 245 laboratorios participantes, de los que 192 remitieron hoja de respuesta. Seis centros no obtuvieron crecimiento de la cepa y otro de los centros no llevó a cabo su identificación por lo que, en realidad, se recibieron 185 hojas de respuesta con resultados valorables, lo que supone un porcentaje de participación real del 75,5%, inferior al de otros controles de micología.

Como se observa en la tabla 1, la mayoría de los participantes identificaron correctamente la especie (84,9%), mientras que 16 centros (8,6%) informaron solamente el género. En tres ocasiones, la cepa remitida fue identificada como *Cryptococcus laurentii* (1,6%) y, en dos casos, como *Cryptococcus uniguttulatus* (1,6%). El resto de identificaciones se detallan en la tabla 1. El Programa de Control de Calidad sólo consideró válida la identificación de especie *C. neoformans*, informada por el laboratorio de referencia, mediante una batería bioquímica comercial (API ID 32C, bioMérieux) y pruebas bioquímicas manuales.

Tabla 1. Resultados de la identificación micológica.

| Identificación | Número | % |
|-----------------------------------|--------|-------|
| <i>Cryptococcus neoformans</i> | 157 | 84,9 |
| Género <i>Cryptococcus</i> | 16 | 8,6 |
| <i>Cryptococcus laurentii</i> | 3 | 1,6 |
| <i>Cryptococcus uniguttulatus</i> | 2 | 1,1 |
| <i>Candida tropicalis</i> | 2 | 1,1 |
| Otros ^a | 5 | 2,7 |
| Total | 185 | 100,0 |

^a*Candida guilliermondii*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata*, *Candida famata* y género *Candida*.

Por lo que respecta a los métodos empleados en la identificación, las pruebas bioquímicas, principalmente mediante sistemas comerciales (API, Vitek, Microscan, etc.) fueron las mayoritariamente utilizadas por los participantes (150 participantes, el 81,1%), de los que 149 (80,6%) las usaron de forma exclusiva, mientras que el otro centro realizó además una técnica de secuenciación. El resto de los centros usaron métodos manuales, como la tinta china (5,4%) y la aglutinación de látex para *C. neoformans* (4,9%), o ambas. Curiosamente, los tres participantes que realizaron únicamente un cultivo en medios cromógenos no refirieron una identificación correcta, sino que informaron diferentes especies de *Candida*. Todos estos datos quedan reflejados en la tabla 2.

Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.

| Métodos | Número | % |
|--|--------|-------|
| Pruebas bioquímicas | 149 | 80,6 |
| Tinta china | 10 | 5,4 |
| Microscopía + aglutinación con látex de criptococo | 9 | 4,9 |
| Manual | 6 | 3,2 |
| Cultivo en medios cromógenos | 3 | 1,6 |
| Microscopía | 2 | 1,1 |
| Pruebas bioquímicas + secuenciación | 1 | 0,5 |
| No informa del método empleado | 5 | 2,7 |
| Total | 185 | 100,0 |

En la tabla 3 se especifican las marcas y sistemas comerciales empleados para la identificación mediante pruebas bioquímicas. Las galerías bioquímicas API (API no especificado, API 20C AUX y API ID 32 C) fueron, en conjunto, el sistema mayoritariamente empleado (51,3%), consiguiendo un elevado porcentaje de acierto, sobre todo con el equipo API ID 32 C, que identificó la cepa correctamente en el 94,4% de las ocasiones. Le siguen en frecuencia de uso otros sistemas comerciales automatizados de bioMérieux (Vitek YBC, Vitek 2) con un 24,7%. También en este caso, el índice de aciertos fue bastante elevado (91,9%). Otros métodos utilizados con menor frecuencia fueron el

sistema Microscan de Dade-Behring, el sistema Auxacolor de BioRad y la galería Rapid Yeast Plus de Remel. Aunque todos ellos muestran un buen comportamiento, debido al bajo número de efectivos, no es posible obtener conclusiones acerca de la eficiencia de estos métodos para identificar la cepa de criptococo.

Tabla 3. Sistemas comerciales utilizados en la identificación por pruebas bioquímicas.

| Método comercial | Número (%) | Acierto (%) |
|---------------------------|-------------|-------------|
| Galerías API (bioMérieux) | | |
| API 20 C AUX | 38 (25,3) | 31 (81,6) |
| API ID 32 C | 36 (24,0) | 34 (94,4) |
| API <i>Candida</i> | 2 (1,3) | 1 (50,0) |
| API no especificado | 1 (0,7) | 1 (100,0) |
| Vitek (bioMérieux) | 37 (24,7) | 34 (91,9) |
| Microscan (Dade-Behring) | 8 (5,3) | 7 (87,5) |
| Auxacolor (BioRad) | 7 (4,7) | 7 (100,0) |
| Rapid Yeast Plus (Remel) | 6 (4,0) | 5 (83,3) |
| Candifast (Oxoid) | 2 (1,3) | 2 (100,0) |
| Manual | 4 (2,7) | 4 (100,0) |
| No informan | 9 (6,0) | 9 (100,0) |
| Total | 150 (100,0) | 135 (90,0) |

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIFÚNGICOS

De los 185 centros que remitieron hoja de respuesta con resultados valorables, 68 (36,7%) 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 66,2% de los casos. En segundo lugar se encuentra la técnica de determinación de la CMI mediante E-test®, que fue utilizada por 9 centros (13,2%), 6 de ellos la usaron como método único. El estudio de sensibilidad mediante el método de concentraciones críticas fue empleado por el 10,3% de los participantes.

Tabla 4. Métodos empleados en el antifungigrama.

| Método | Número | % |
|----------------------------|--------|-------|
| CMI ^a | 45 | 66,2 |
| Concentraciones críticas | 7 | 10,3 |
| E-test® | 6 | 8,8 |
| Disco-placa | 4 | 5,9 |
| CMI ^a + E-test® | 3 | 4,4 |
| No especificado | 3 | 4,4 |
| Total | 68 | 100,0 |

^aCMI por microdilución en caldo.

Respecto a las marcas empleadas, el sistema comercial más utilizado fue Sensititre® (44,9%), seguido de ATB-Fungus de bioMérieux (20,7%) y Vitek YBC (12,1%). En cinco 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) | 26 | 44,9 |
| ATB-Fungus (bioMérieux) | 12 | 20,7 |
| Vitek YBC | 7 | 12,1 |
| Fungitest® (Bio-Rad) | 5 | 8,6 |
| Candifast® (Oxoid) | 2 | 3,4 |
| Manual | 1 | 1,7 |
| No especifican | 5 | 8,6 |
| Total | 58 | 100,0 |

El laboratorio de referencia empleó el método de microdilución en caldo de Sensititre® para la determinación de la CMI, basándose para su interpretación en los criterios del *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI) para el género *Candida* recogidos en el documento M-27A2 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. Además, dicho laboratorio señala la inexistencia de criterios específicos

de interpretación de las pruebas de sensibilidad (puntos de corte) para *Cryptococcus*, por lo que las comparaciones deben ser realizadas con precaución.

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

| Antifúngico | CMI ^a | Interpretación ^b |
|------------------|------------------|-----------------------------|
| Anfotericina B | 0,25 | S |
| Fluconazol | 16,0 | SDD |
| Itraconazol | 0,25 | SDD |
| 5-Fluorocitosina | 4,0 | S |
| Ketoconazol | 0,25 | S |
| Caspofungina | 8,0 | R |
| Voriconazol | 0,5 | S |

^aCMI expresada en µg/mL.

^bR: resistente; S: sensible; SDD: sensible Dependiente de la Dosis.

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 12 antifúngicos diferentes, aunque en la tabla sólo se detallan aquellos que fueron estudiados por un número igual o superior a 19 centros, que en este caso coinciden con los aportados por el laboratorio de referencia.

Tabla 7. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antifúngicos.

| Antifúngico | Número | Interpretación ^a | | | | |
|------------------|--------|-----------------------------|------------|------------|------------------|---------------|
| | | Sensible | Intermedio | Resistente | SDD ^b | No interpreta |
| Anfotericina B | 68 | 59 (86,8) | 9 | 0 | 0 | 0 |
| Fluconazol | 65 | 49 (75,4) | 1 | 2 | 4 | 9 |
| 5-fluorocitosina | 56 | 46 (82,1) | 2 | 3 | 0 | 5 |
| Itraconazol | 50 | 37 (74,0) | 3 | 1 | 2 | 7 |
| Voriconazol | 39 | 30 (76,9) | 0 | 1 | 0 | 8 |
| Ketoconazol | 21 | 16 (76,2) | 1 | 0 | 0 | 4 |
| Caspofungina | 19 | 0 | 0 | 13 (68,4) | 0 | 6 |

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

^bSDD: Sensible Dependiente de la Dosis.

Como se observa en la tabla 7, la interpretación de los resultados obtenidos con los distintos antifúngicos, en comparación con los aportados por el laboratorio de referencia, muestra unos porcentajes de concordancia que oscilan entre el 68,4% y el 86,8%. Algunos laboratorios no interpretaron los resultados cuantitativos obtenidos, ya que no existen puntos de corte establecidos para algunos de los antifúngicos estudiados.

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: 180 (93,8%) centros comentan no utilizarlo, 2 (1,0%) afirman haberlo usado, y 3 lo utilizaron parcialmente (1,6%). Fueron 7 los centros que no aportaron este dato (3,6%).

COMENTARIOS

Otros comentarios mayoritarios fueron acerca de recomendaciones terapéuticas, principalmente el tratamiento con anfotericina B junto con 5-fluorocitosina.

Algunos centros manifestaron que no existen puntos del corte del CLSI para *Cryptococcus*, que no realizan antibiograma para levaduras o que no lo solicitaban en este control.